SEQUENZANALYSE VON HÄMOGLOBINEN

Primärstruktur der Hämoglobine einiger Vertreter der Chiroptera und des Alpenmurmeltiers

John G. Sgouros

Disbui. München
1988

UNIV.
LONDON
BIB.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554801_0066

SEQUENZANALYSE VON HÄMOGLOBINEN

Primärstruktur der Hämoglobine

einiger Vertreter der Chiroptera

und

des Alpenmurmeltiers

Dissertation

der Fakultät für Biologie

der Ludwig-Maximilians-Universität

München

vorgelegt von

John G. Sgouros

aus Athen

1987

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Bernt Linzen

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Walter Schartau

Sonderberichterstatter: Prof. Dr. Gerhard Braunitzer

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Juni 1988

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstr. 15, Tel. 288663

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG.....1

2. MATERIAL UND METHODEN.....4

2.1. Hämoglobingewinnung und Titerbestimmung.....4

2.2. Disk-Elektrophorese der Hämoglobine.....4

2.3. Komponententrennung.....5

2.4. Kettentrennung.....5

2.5. Triton-Elektrophorese des Hämoglobins
und der Ketten.....6

2.6. Analysen.....7

2.7. Sequenzierung der Ketten.....7

2.8. Tryptische Spaltung der Ketten.....8

2.9. Vortrennung der tryptischen Peptide
mittels Gelfiltration.....8

2.10. Dünnschichtelektrophorese.....9

2.11. Isolierung der tryptischen Peptide mittels
HPLC.....9

2.12. Sequenzierung der tryptischen Peptide.....10

2.13. Saure Hydrolyse der Asp-Pro-Bindung der
Globinketten.....11

3. ERGEBNISSE.....12

3.1. Säuger-Hämoglobine.....12

3.1.1 Chromatographie und Elektrophorese.....12

3.1.2. Kettentrennung.....15

3.1.3. Sequenzierung der Globinketten.....16

3.1.3.1. Gewinnung der tryptischen Peptide aus
nativen Ketten am Beispiel des
Lyra-Fledermaus-Hämoglobins.....16

3.1.3.2. Gewinnung der tryptischen Peptide aus oxidierten Ketten....24
3.1.3.2.1. Mit Sephadex-Vortrennung....24
3.1.3.2.2. Ohne Sephadex-Vortrennung....26
3.1.4. Die Sequenzierung der untersuchten Säuger-Hämoglobine....27
3.1.4.1. Alpenmurmeltier (Marmota marmota marmota)....27
3.1.4.2. Kurznasen-Flughund (Cynopterus sphinx)....27
3.1.4.3. Graukopf-Flughund (Pteropus poliocephalus)....27
3.1.4.4. Lyra-Fledermaus (Megaderma lyra)....27
3.1.4.5. Hardwicke-Klappnase (Rhinopoma hardwickei)....27
3.1.4.6. Sequenzierungsstrategie der Globinketten....28
3.1.4.7. Analysen der Säuger-Hämoglobine....38
3.1.4.8. Sequenzen der Säuger-Hämoglobine....48
4. DISKUSSION....53
4.1. Wertung der verwendeten Methoden....53
4.1.1. Kettentrennung....53
4.1.2. Isolierung der Peptide....53
4.2. Struktur und Funktion....56
4.3. Evolution....64
4.3.1. Flughunde und Fledermäuse....64
4.3.2. Alpenmurmeltier....76
5. ZUSAMMENFASSUNG....81
6. LITERATUR....82
7. DANKSAGUNG....88
8. LEBENSLAUF....89

ABKÜRZUNGEN

DEAE-:	Diethylaminoethyl-
HPLC:	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
PAGE:	Polyacrylamidgelelektrophorese
Quadrol:	N,N,N',N'-Tetrakis(2-hydroxypropyl)-ethylendiamin
Reagens IV:	7-(Isothiocyanato)naphthalin-1,3,5-trisulfonsäure, Trinatriumsalz
TS:	Peptidhaltige Fraktion bei der Sephadex-Vortrennung der tryptischen Peptide
Tp:	Tryptisches Peptid
TPCK:	(N-Tosyl-L-phenylalanyl)chlormethan

1. EINLEITUNG

Die Sequenzierung von Hämoglobinen hat in den letzten Jahren wichtige Beiträge nicht nur zur Aufklärung der Beziehung zwischen Struktur und Funktion bei allosterischen Proteinen, sondern auch zur Überprüfung der Systematik und der Phylogenie verschiedener Klassen von Organismen geleistet. Die große Anzahl der Sequenzen einerseits und die Entwicklung mathematischer Methoden andererseits führte in vielen Fällen zu neuen Erkentnissen über die Phylogenie und Evolution der Organismen[1].

Die systematische Stellung der verschiedenen Tiere innerhalb der Systematik, wie sie aus den bekannten Globinsequenzen abgeleitet wurde, ist in Abb. 1 dargestellt. Hier wurden neben Hämoglobin alle Proteine, deren Sequenzen zu diesem Zeitpunkt bekannt waren, verwendet, wobei die unterschiedlichen Evolutionsraten außer acht gelassen wurden[1].

Obwohl bei Beginn dieser Arbeit die Hämoglobine einer großen Anzahl von Vertretern aus vielen Ordnungen bereits sequenziert waren[2], fehlten solche Kenntnisse für die Ordnung Chiroptera fast vollständig. Die Systematik dieser Tiere war umstritten[1,3,4], so daß molekulare Untersuchungen auf diesem Gebiet lohnend erschienen. Die Entdeckung von J. D. Pettigrew[4], daß das Sehsystem bei den Flughunden (Megachiroptera) identisch mit dem der Primaten ist, hat die Frage aufgeworfen, ob die Flughunde vielleicht "fliegende Primaten" seien, was bedeuten würde, daß sich die Fähigkeit zu fliegen bei den Säugetieren zweimal entwickelt hätte. Aus

UNIV. LEIDEN BIBL.

diesen beiden Gründen war die Sequenzierung von Hämoglobinen der Chiroptera von großem Interesse. Im Laufe dieser Arbeit wurden die Primärstrukturen der Hämoglobine der Flughunde *Cynopterus sphinx* und *Pteropus poliocephalus*, sowie der Fledermäuse *Megaderma lyra* und *Rhinopoma hardwickei* bestimmt. Die erhaltenen Sequenzdaten wurden zusammen mit anderen, die inzwischen schon zur Verfügung standen[5-10], mit Hilfe der Maximum Parsimony Methode[11] ausgewertet. Ziel dieser Untersuchung war die Aufklärung der Verwandtschaft sowohl zwischen Mega- und Microchiroptera als auch zwischen Megachiroptera und Primaten.

Ferner wurden die für die Struktur und Funktion wichtigen Aminosäureaustausche mit Hilfe des Modells des Humandeoxyhämoglobins auf mögliche Einflüsse auf die Eigenschaften des Moleküls untersucht. Physiologische Messungen waren allerdings nur für das Hämoglobin der Fledermaus Tadarida brasiliensis vorhanden[8].

Bei der Sequenzierung des Hämoglobins des Alpenmurmeltiers (Marmota marmota marmota) waren zwei Punkte von Interesse: Einmal die Fähigkeit dieser Tiere, den Winter in geschlossenen Höhlen zu verbringen, in denen die Kohlendioxid-Konzentration sehr hoch ist (wobei hier geklärt werden sollte, ob eine Anpassung an diese hyperkapnischen Bedingungen über die Primärstruktur des Hämoglobins erfolgt) und zum anderen die Stellung des Murmeltiers innerhalb der Nagetier-Systematik und seine Verwandtschaft zu den Erdhörnchen.

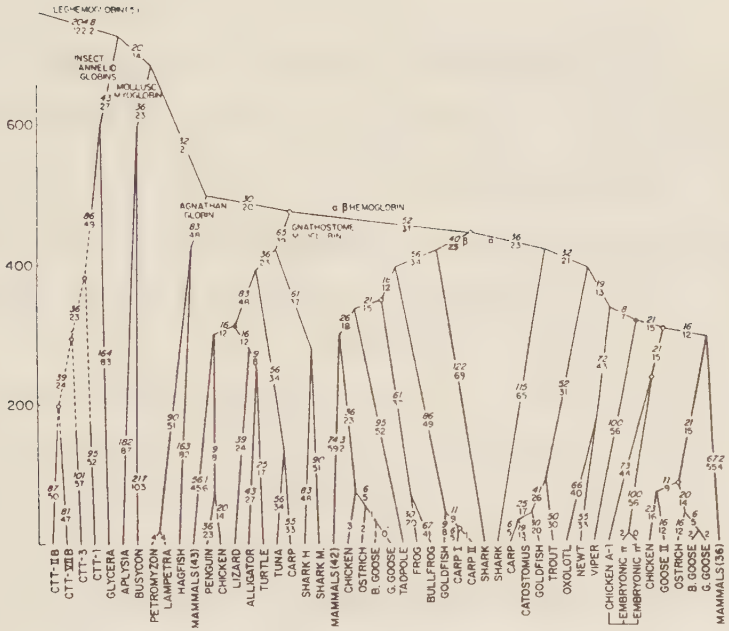


Abb. 1: Stammbaum anhand aller bekannten Globinsequenzen[1]

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Hämoglobingewinnung und Titerbestimmung

Nach Zentrifugation des mit Heparin versetzten Blutes und Entfernung des Serums wurden die Erythrozyten dreimal in isotonischer (0.9%) NaCl-Lösung suspendiert und anschließend bei 3000 U/min zentrifugiert. Nach der dritten Zentrifugation wurde statt NaCl-Lösung Wasser im Volumenverhältnis 1:1 zugesetzt und die Erythrozyten nochmals suspendiert. Um die Lyse zu beschleunigen, wurde die Suspension anschließend eingefroren und aufgetaut. Durch Zentrifugation bei ca. 15,000 U/min konnten die Membranen entfernt und eine klare, wäßrige Hämoglobin-Lösung erhalten werden.

Für die Titerbestimmung wurden 20 µl dieser Lösung mit 2.0 ml TRAFO-Lösung gemischt. Nach 15 min wurde die Extinktion bei 540 nm gemessen und die Hämoglobinkonzentration wie folgt berechnet:

Extinktion x 1.45 x Verdünnungsfaktor = mg Hb/ml

Verdünnungsfaktor = 2.020 ml : 0.020 ml = 101

Herstellung der TRAFO-Lösung:

160 mg Kaliumhexacyanoferrat (III)
160 mg Kaliumcyanid
H_2O ad 100 ml

2.2. Disk-Elektrophorese der Hämoglobine

Zur Untersuchung der nativen Hämoglobine wurden Rundgele von

0.5 x 7.5 cm verwendet.

Gel-Lösung: 10% Acrylamid-Bisacrylamid in 375 mM Tris-HCl-Puffer, pH 8.9.

Elektrophoresepuffer: 7.4 mM Tris/Glycin, pH 8.3.

Polymerisation: 1 h.

Pro Gel wurde eine mit Saccharose beschwerte Lösung von ca. 25 µg Hämoglobin aufgetragen und 10 min bei einer Stromstärke von 1 mA pro Gel konzentriert. Die anschließende Laufzeit bei 4.5 mA pro Gel unter Verwendung von Bromphenolblau als Frontindikator betrug etwa 80 min. Die Banden wurden mit einer 1%igen Lösung von Amidoschwarz 10 B (Merck) in 7%iger Essigsäure angefärbt und die Gele anschließend mit 7%iger Essigsäure entfärbt.

2.3. Komponententrennung

Säule: 1.6 cm x 13 cm DEAE-Sephacel (Pharmacia)

Puffer: 40mM Tris-HCl, 0.01% KCN, pH 8.7

Gradient: 0-0.1M NaCl im Puffer, 275+275 ml

Durchflußgeschwindigkeit: 13 ml/h = 4 Fraktionen

Die Extinktion des Eluats wurde bei 540 nm gemessen.

2.4. Kettentrennung

Die Kettentrennung erfolgte mittels HPLC an LiChrosorb RP 2 (Merck) in 0.1M Ammoniumacetat/5% Ameisensäure, pH 3.0, wobei bereits beim Auftragen der Hämoglobin-Probe eine Acetonitril-Konzentration von 35% vorgegeben wurde. Die Ketten und das Häm wurden anschließend mit geringfügig variierten, linearen Acetonitril-Gradienten eluiert. Das

HPLC-System bestand aus einem 324 Gradient Liquid Chromatograph, Controller 421 (Beckman Instruments), einem UV-Detector Spectronic BT 3030 (Biotronik) und einem Recorder C-R2A (Shimadzu). Die Säulen wurden mit einem Shandon-Packgerät (Gynkotec) gefüllt.

Säule: 8 mm x 250 mm

Durchflußgeschwindigkeit: 1 ml/min

Die Extinktion des Eluats wurde bei 280 nm gemessen.

Die HPLC-Fraktionen wurden im Stickstoffstrom getrocknet, um das Acetonitril und die Ameisensäure zu entfernen. Der Rückstand wurde in ca. 1 ml Wasser gelöst, und anschließend über Nacht lyophilisiert, um das Ammoniumacetat zu entfernen.

2.5. Triton-Elektrophorese des Hämoglobins und der Ketten

Zur Ermittlung der Anzahl der Ketten in den Hämoglobinen und zur Überprüfung ihrer Reinheit nach der Kettentrennung wurde eine Elektrophorese unter dissoziierenden Bedingungen durchgeführt. Auch hier wurden Rundgele (0.5 cm x 7.5 cm) verwendet.

Gel-Lösung: 12% Acrylamid-Bisacrylamid in 8M Harnstoff,
5% Essigsäure,
2% Triton X-100.

Elektrophoresepuffer: 5% Essigsäure

Probenpuffer: 8M Harnstoff
8% Essigsäure
8% 2-Mercaptoethanol

Polymerisation: 15 h

Vorelektrophorese: 1 h bei 200 V

Proben: 200 µg Kette wurden in 200 µl Probenpuffer mindestens 2 h inkubiert. Davon wurde ein 20-50 µl-Aliquot auf das Gel gegeben.

Laufzeit: 4 h bei 140 V.

Färbung und Entfärbung erfolgten wie bei der Disk-Elektrophorese (2.2).

2.6. Analysen

200 µg Globin wurden in 5.7N HCl gelöst und 20 Stunden im Vakuum bei 110°C hydrolysiert. Die Salzsäure wurde durch Vakuumzentrifugation entfernt und der Rückstand in 100 µl 66.7mM Natriumcitratpuffer, pH 2.2, gelöst. Davon wurde ein Aliquot für die Analyse genommen, das ca. 1 nmol Kette enthielt. Zur Ermittlung des Tryptophangehaltes wurde die Hydrolyse in Gegenwart von 6% Thioglycolsäure durchgeführt [12]. Für die Bestimmung von Cystein und Methionin wurden die Ketten vor der Hydrolyse oxidiert[13]. Zur Analyse des Hydrolysates wurde ein Amino Acid Analyzer LC-5000 (Biotronik) verwendet, der mit der Einsäulenmethode arbeitet. Für die Analysen der Peptide wurden 1-2 nmol eingesetzt.

2.7. Sequenzierung der Ketten

Für die Sequenzierung der Ketten wurden die Film-Methode in Liquid-Phase-Sequenatoren 890 B und 890 C (Beckman) und ein modifiziertes Quadrol-Programm (0.25M Quadrol)[14]

verwendet. Die Sequenzen wurden bis zu Position 42 ermittelt. Die Konversion der Thiazolinonderivate zu Phenylthiohydantoinen erfolgte in 1.9M Trifluoressigsäure bei 80°C für 14 min. Anschließend wurden die Fraktionen im Stickstoffstrom getrocknet und der Rückstand in HPLC-Puffer gelöst. Die Identifizierung erfolgte mittels HPLC und zwar entweder mit isokratischer[15] oder Gradienten-Elution[16], in beiden Fällen an LiChrosorb RP 18 (Merck).

2.8. Tryptische Spaltung der Ketten

Für die tryptische Spaltung wurden 10 mg native oder oxidierte Kette in 1.0 ml H_2O gelöst und mit 0.1N Natronlauge auf pH 11.0 titriert, um eine Denaturierung des Proteins zu erzielen. Anschließend wurde eine wäßrige Lösung von TPCK-behandeltem Trypsin (Worthington) hergestellt (10 µg/µl) und ein Aliquot in die Lösung der Ketten gegeben, so daß das Verhältnis Kette:Enzym 100:1 betrug. Nach 2 Stunden wurde ein gleiches Aliquot zugegeben und die Spaltung für weitere 2 Stunden fortgesetzt. Das Hydrolysat wurde anschließend mit 0.1M HCl titriert, wobei das unlösliche "Core" bei pH 6.5-6.7 ausfiel und durch Zentrifugation entfernt werden konnte. Der klare Überstand wurde weiter mit 0.1M HCl auf pH 3.0 titriert und durch Gelfiltration vorgetrennt. Das "Core" wurde bei -70°C aufbewahrt.

2.9. Vortrennung der tryptischen Peptide mittels Gelfiltration

Säule: 2.6 cm x 140 cm Sephadex G-25 Fine (Pharmacia),

Fließmittel: 0.1M Essigsäure

Durchflußgeschwindigkeit: 12 ml/h = 3 Fraktionen

Die Extinktion wurde bei 230 und 280 nm gemessen.

Für jeden Gipfel wurden die Fraktionen vereinigt und durch Einrotieren von der Essigsäure befreit. Der Rückstand wurde in 750 µl H_2O gelöst.

2.10. Dünnschichtelektrophorese

Nach der Lyophilisation wurden 5µl Peptidlösung aus jeder Probe entnommen und auf DC-Fertigplatten Cellulose (10 cm x 20 cm, Schichtdicke 0.1 mm, Merck) getüpfelt. Die Platten wurden mit Puffer besprüht und in das mit fließendem Wasser gekühlte Gerät gebracht. Die Elektrophorese dauerte 90 min bei einer Spannung von 450 V. Danach wurde die Platte bei 80°C getrocknet, mit 0.1%igem Ninhydrinreagenz besprüht und bei derselben Temperatur 15 min inkubiert, um die Peptide sichtbar zu machen. Bei präparativen Elektrophoresen wurden die Proben in einer Linie getüpfelt. Nach der Elektrophorese wurden nur die Randzonen angefärbt und anschließend die peptidhaltigen Streifen ausgekratzt. Die Peptide wurden mit 2M Essigsäure von der Cellulose eluiert.

Puffer: 5% Aceton
5% Pyridin
pH 5.4 mit Essigsäure eingestellt.

2.11. Isolierung der tryptischen Peptide mittels HPLC[17]

Von jeder Peptidlösung wurde für die HPLC-Trennung ein 250µl-Aliquot entnommen.

Säule: 0.46 cm x 25 cm LiChrosorb RP2, Korngröße 7µm, (Merck)

Puffer: 0.05M Ammoniumacetat, pH 6.0

Gradient: Acetonitril für die Chromatographie LiChrosolv (Merck), 0-40% in 40 min, danach 60%.

Durchflußgeschwindigkeit: 1ml/min

Gerät: Wie bei der Kettentrennung (2.4.).

Die Extinktion des Eluats wurde bei 230 nm gemessen. Die Fraktionen wurden im Stickstoffstrom getrocknet und der Rückstand in 500 µl H_2O gelöst. Anschließend wurde die Lösung eingefroren und 24 h lyophilisiert.

Die lyophilisierten Peptide wurden in 75 µl H_2O gelöst. Von dieser Lösung wurde ein 5-µl Aliquot für die Dünnschichtelektrophorese (2.10.) entnommen. Nach dieser Reinheitskontrolle der Peptide, wurde ein 10 µl-Aliquot für die Hydrolyse (20 h) zur Analyse eingesetzt.

2.12. Sequenzierung der tryptischen Peptide

Alle Angaben über die Kettensequenzierung (2.7.) gelten auch für die tryptischen Lysin-Peptide, die vor dem Abbau mit Reagenz IV[18] umgesetzt wurden. Für Arginin- und Prolylpeptide wurde anstelle von Quadrol 3-(Diethylamino)propin[19] als Puffer verwendet. Neben der Film-Methode[20] wurde zur Sequenzierung auch die Gasphasen-Methode[21] verwendet, für die zwei in der Abteilung gebaute Geräte[22] eingesetzt wurden.

2.13. Saure Hydrolyse der Asp-Pro-Bindung der Globinketten[23]

10 mg Kette wurden in 6M Guanidin/70% Ameisensäure gelöst. Die Spaltung erfolgte bei 42°C für 55 Stunden. Anschließend wurde das Hydrolysat mittels Gelfiltration in die Peptide aufgetrennt.

Säule: 1.6 cm x 130 cm Sephadex G-50 Fine (Pharmacia)

Fließmittel: 8M Harnstoff in 10% Ameisensäure

Durchflußgeschwindigkeit: 9 ml/h = 3 Fraktionen

Die Extinktion des Eluats wurde bei 280 nm gemessen. Die Fraktionen, die das Prolylpeptid enthielten, wurden vereinigt und mittels Gelfiltration entsalzt.

Entsalzungssäule: 2.6 cm x 40 cm Sephadex G-25 Fine (Pharmacia)

Fließmittel: 1M Essigsäure

Durchflußgeschwindigkeit: 60 ml/h = 12 Fraktionen

Die Extinktion des Eluats wurde bei 280 nm gemessen. Die Fraktionen des proteinhaltigen Gipfels wurden vereinigt und durch Einrotieren getrocknet. Der Rückstand wurde in 250 µl H_2O gelöst und ein 5 µl-Aliquot für die Hydrolyse und Aminosäureanalyse entnommen. Für die Sequenzierung des Prolylpeptids wurde ein 3-(Diethylamino)propin-Programm[19] verwendet.

3. ERGEBNISSE

3.1. Säuger-Hämoglobine

3.1.1. Chromatographie und Elektrophorese

Die untersuchten Säuger-Hämoglobine bestanden zu mehr als 95% aus einer Komponente. Ob es sich bei der in einzelnen Fällen auftretenden zweiten Bande um ein auf die lange Lagerung zurückzuführendes Artefakt oder eine Nebenkomponente handelt, wurde nicht geklärt. Das Hämoglobin des Graukopf-Flughundes *Pteropus poliocephalus* enthielt zwei Komponenten im Verhältnis 1:1, die Triton-Elektrophorese zeigte jedoch kein eindeutiges Bild. Die Einheitlichkeit des Hämoglobins konnte durch DEAE-Sephacel-Chromatographie sowie durch PAGE des nativen Hämoglobins und der getrennten Ketten bestätigt werden. Als Beispiel wird die Untersuchung des Alpenmurmeltier-Hämoglobins angegeben (Abb. 2,3). Die Aufspaltung der Bande, die den β-Ketten entspricht, konnte nicht erklärt werden. Sowohl die Komponententrennung als auch die Sequenzierung zeigten eindeutig, daß nur ein Hämoglobin vorlag. Daß eine einheitliche Kette bei der Triton-Elektrophorese nicht nur eine Bande gibt, ist jedoch auch in anderen Fällen vorgekommen.

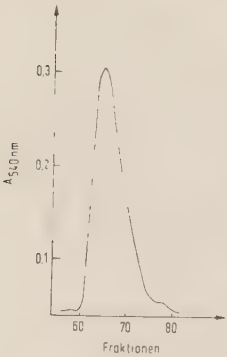


Abb. 1

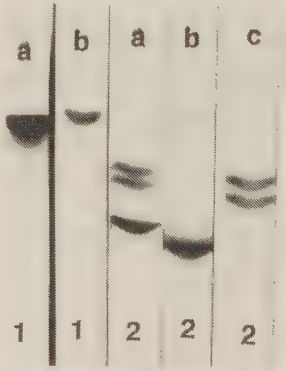
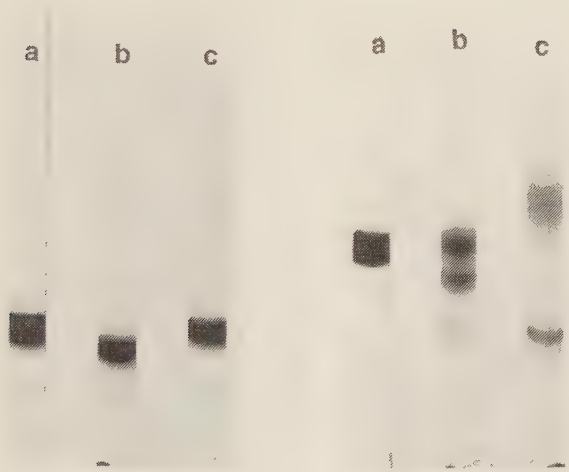


Abb. 2

Die PAGE-Untersuchung der Mega- und Microchiroptera Hämoglobine ergab folgendes Bild (Abb. 4):

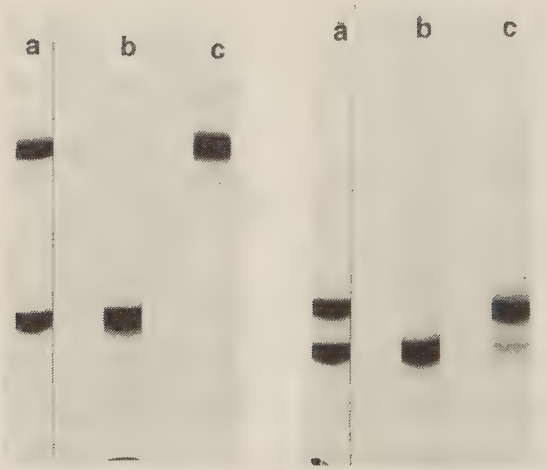


Cynopterus sphinx *Pteropus poliocephalus*

Abb. 4: Triton-Page der Hämoglobine der Mega- und Microchiroptera. a) Hämoglobin, b) α-Kette, c) β-Kette. Bedingungen s. Abs. 2.5.

Abb. 2: Alpenmurmeltier, Komponententrennung an DEAE-Sephacel. Säule: 1.6 cm x 13 cm DEAE-Sephacel (Pharmacia). Puffer: 40mM Tris-HCl, 0.01% KCN, pH 8.7. Gradient: 0-0.1M NaCl im Puffer, 275+275 ml. Durchflußgeschwindigkeit: 13ml/h = 4 Fraktionen.

Abb. 3: Alpenmurmeltier, PAGE des Hämolysats. 1: Disk-PAGE des Hämoglobins (a) und der durch DEAE-Sephacel gereinigten Komponente (b). 2: Triton-PAGE des Hämoglobins (a), der α-Kette (b) und der β-Kette (c). Bedingungen s. Abs. 2.2. und 2.5.



Megaderma lyra *Rhinopoma hardwickei*

Abb. 4: Triton-Page der Hämoglobine der Mega- und Microchiroptera. a) Hämoglobin, b) α-Kette, c) β-Kette. Bedingungen s. Abs. 2.5.

3.1.2. Kettentrennung

Die Ketten wurden in allen Fällen durch HPLC des Hämoglobins getrennt, wobei der optimale Gradient geringfügig variierte. Genaue Angaben hierüber werden bei den einzelnen Tierarten gemacht. Als Beispiel für die Kettentrennungen wird das Chromatogramm für das Alpenmurmeltier angegeben (Abb. 5). Während bei den meisten Species zunächst die β-Ketten und dann die α-Ketten eluiert werden, war es bei den hier untersuchten Säugetieren umgekehrt. Durch Triton-PAGE konnte der Kettentyp identifiziert und die Rheinheit überprüft werden. Das Häm wurde bei einer höheren Acetonitril-Konzentration nach den Ketten eluiert.

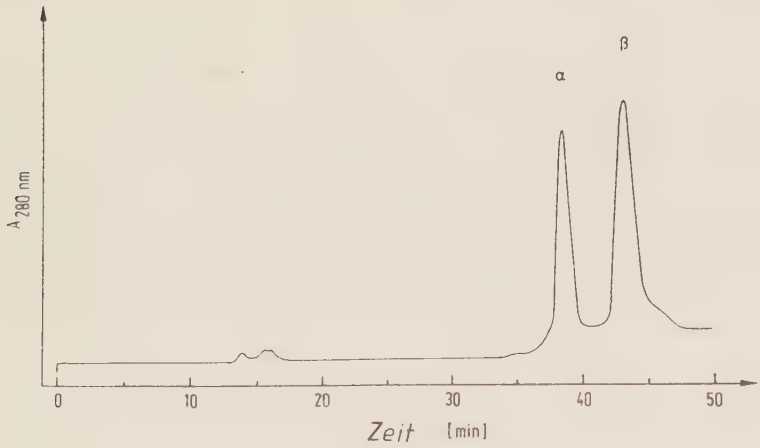


Abb. 5: Alpenmurmeltier, Kettentrennung. Säule: 0.8 cm x 25 cm LiChrosorb RP 2 (Merck). Puffer: 0.1M Ammoniumacetat/5% Ameisensäure, pH 3.0. Gradient: Acetonitril, 35-55% in 50 min. Durchflußgeschwindigkeit: 1ml/min.

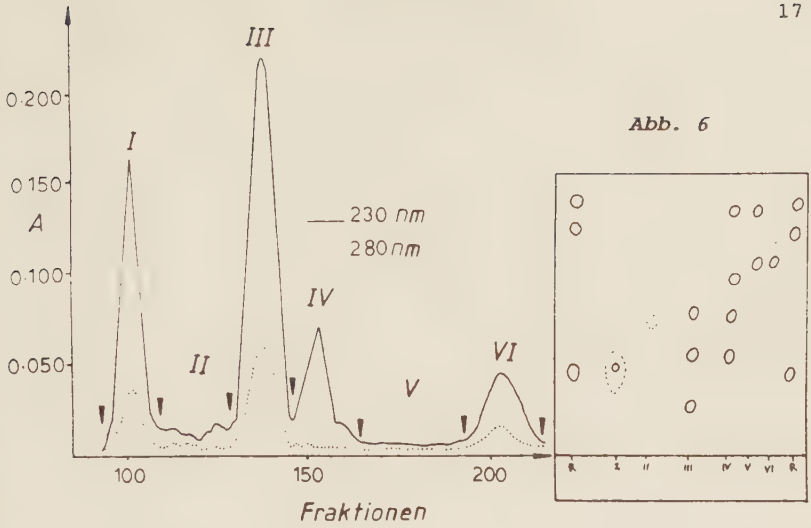
3.1.3. Sequenzierung der Globinketten

Für die Sequenzierung der einzelnen Globin-Ketten wurden verschiedene Methoden verwendet, die im folgenden beschrieben werden sollen:

3.1.3.1. Gewinnung der tryptischen Peptide aus nativen Ketten am Beispiel des Lyra-Fledermaus-Hämoglobins

Nach der tryptischen Spaltung der Ketten wurde das Core ausgefällt (üblicher pH-Bereich 6.5-7.0) und der lösliche Teil nach Einstellen auf pH 2.5-3.0 über Sephadex G-25 Fine in 0.1M Essigsäure vorgetrennt. Die Anzahl der in jedem Gipfel enthaltenen Peptide konnte durch Dünnschicht-elektrophorese ermittelt werden (Abb. 6,7).

Die Isolierung der einzelnen Peptide in reiner Form erfolgte durch HPLC der Sephadex-Gipfel in 50 mM Ammoniumacetat (pH 6.0) mit einem Acetonitril-Gradienten an RP2 (7 µm) (Abb. 8,9). Ihr Reinheitsgrad wurde mittels Dünnschicht-elektrophorese geprüft. Durch die anschließende Aminosäure-analyse konnten die einzelnen Peptide identifiziert und ihre Reinheit bestätigt werden.



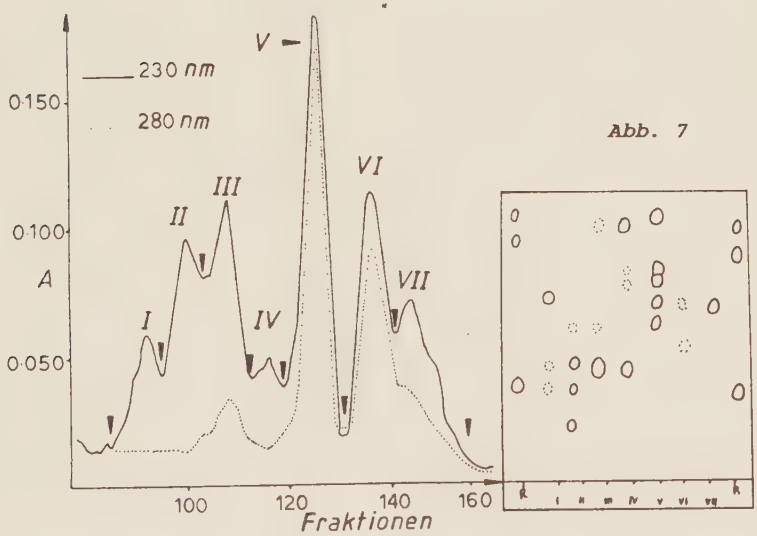


Abb. 6 & 7: Lyra-Fledermaus, Vortrennung der tryptischen Peptide der α- bzw. β-Ketten und Dünnschichtelektrophorese der Fraktionen. Säule: 2.6 cm x 140 cm Sephadex G-25 Fine. Fließmittel: 0.1M Essigsäure. Durchflußgeschwindigkeit: 12 ml/h = 3 Fraktionen.

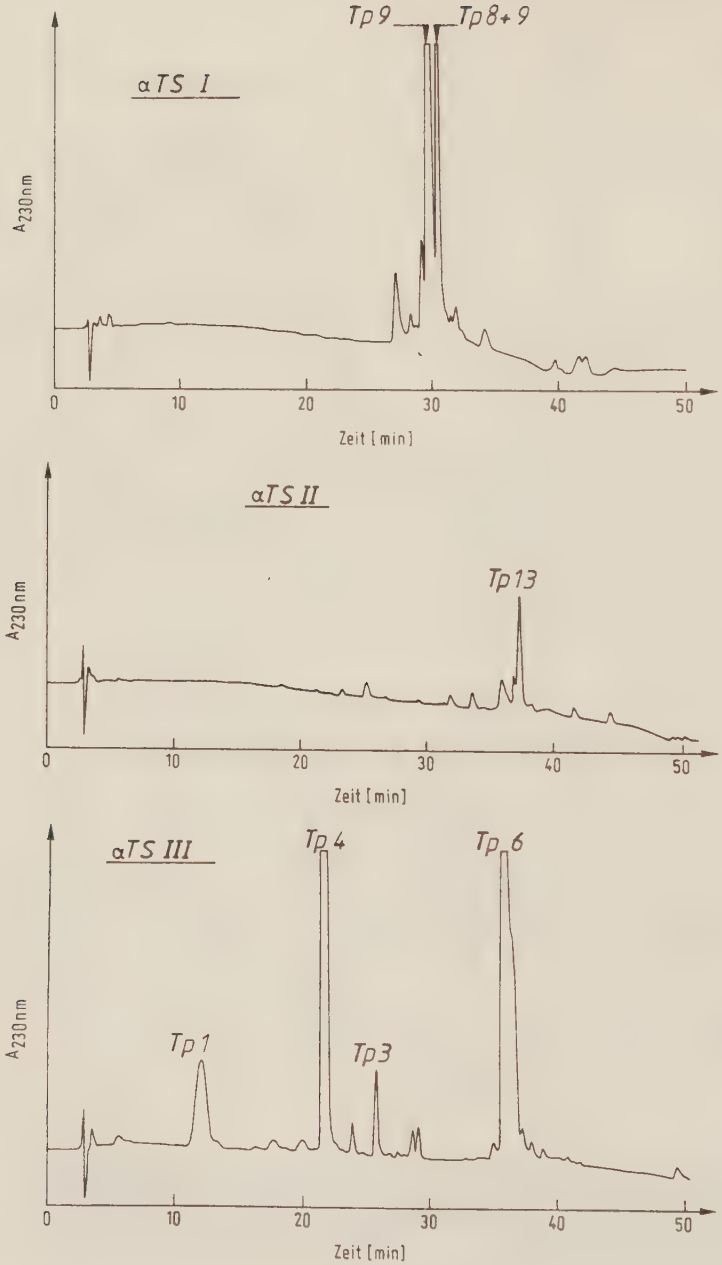

αTS I
Tp9
Tp8+9
A230nm
0
10
20
30
40
50
Zeit [min]
αTS II
Tp13
A230nm
0
10
20
30
40
50
Zeit [min]
αTS III
Tp4
Tp6
Tp1
Tp3
A230nm
0
10
20
30
40
50
Zeit [min]

Abb. 8

Abb. 8 (Fortsetzung)

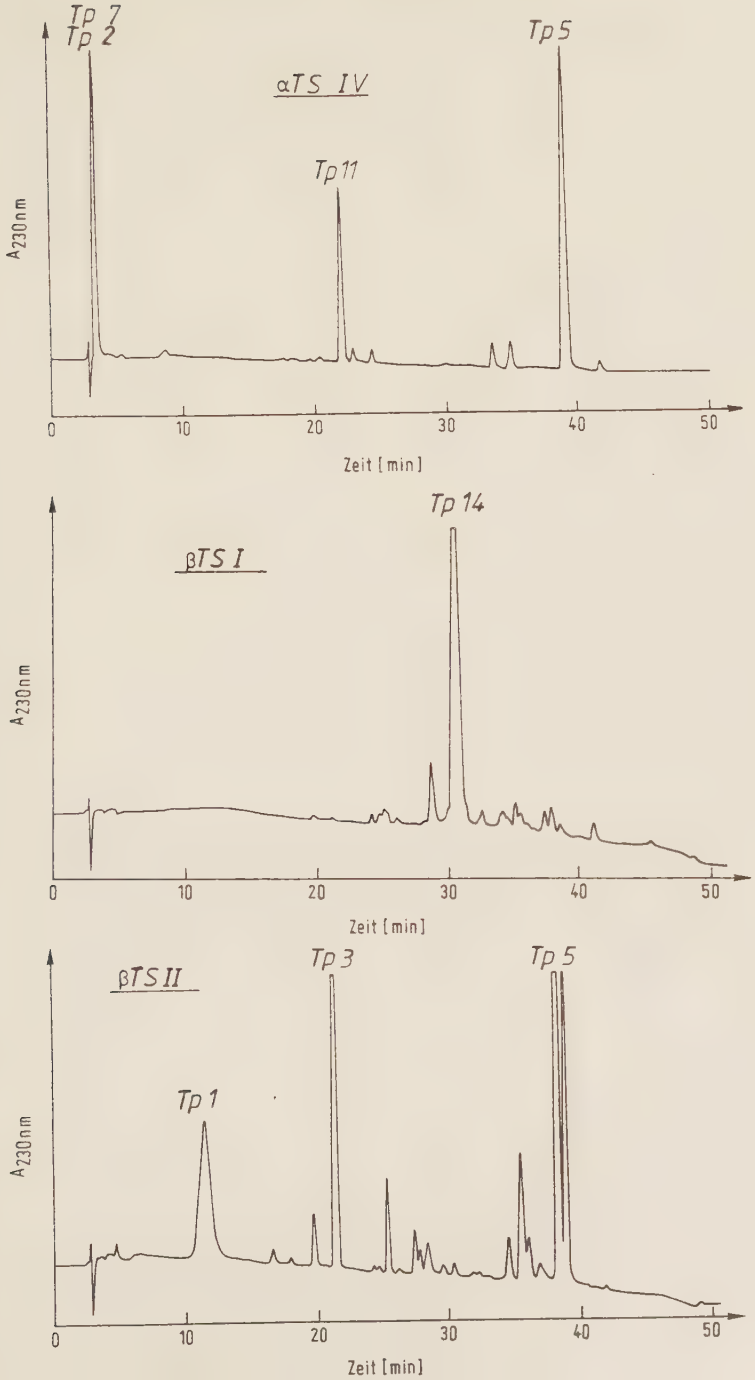
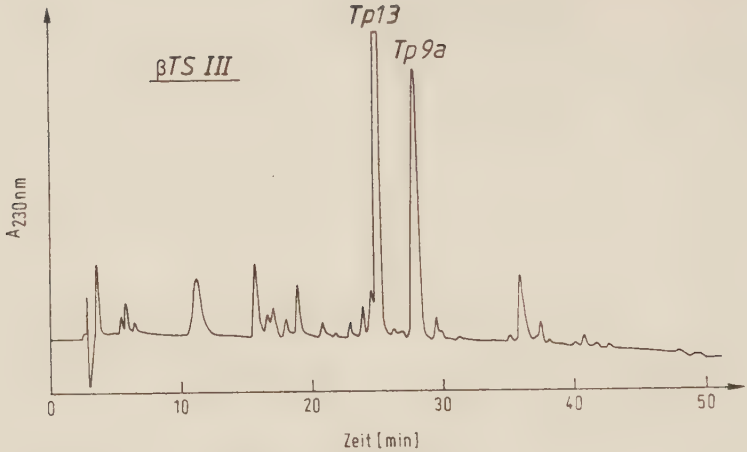
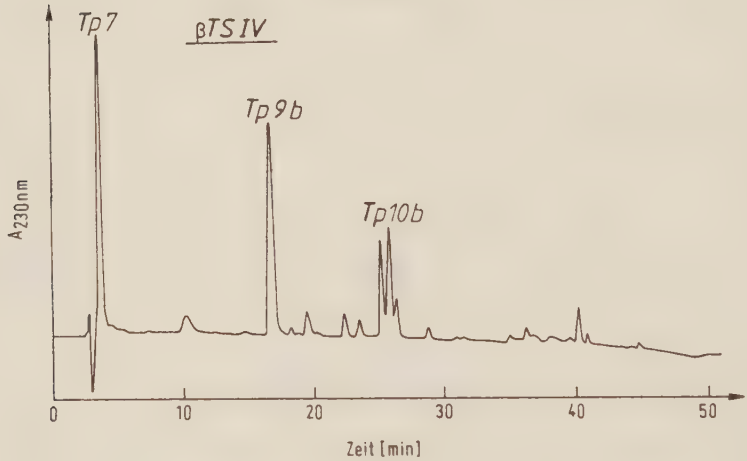


Abb. 9





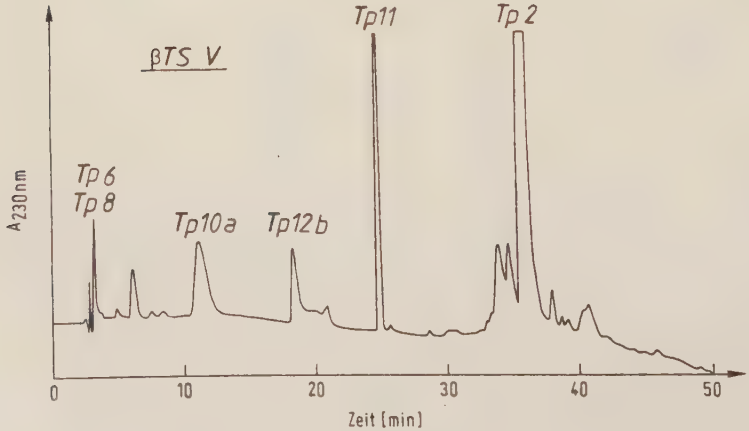


Abb. 9 (Fortsetzung)

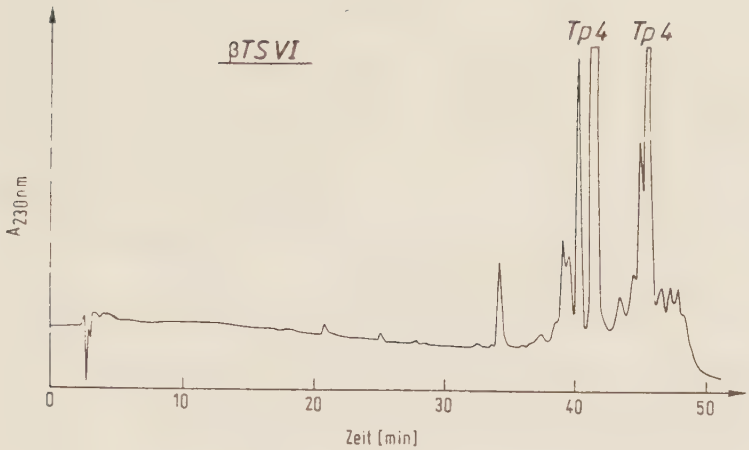


Abb. 9 (Fortsetzung)

Abb. 8 & 9: Isolierung der tryptischen Peptide der α- bzw. β-Ketten des Lyra-Fledermaus-Hämoglobins durch HPLC der Sephadex-Fraktionen (Abb. 5 & 6). Säule: 0.46 cm x 25 cm LiChrosorb RP 2 (Merck). Puffer: 0.05 M Ammoniumacetat, pH 6.0. Gradient: Acetonitril, 0-40% in 40 min, danach 60%. Durchflußgeschwindigkeit: 1 ml/min.

Alle tryptischen Peptide bis auf αTp12 und βTp12a konnten aus dem löslichen Teil des tryptischen Hydrolysats gewonnen werden. Das unlösliche Core wurde oxidiert und mittels HPLC in 0.1% Trifluoressigsäure an RP18 mit einem Acetonitril-Gradienten chromatographiert, wodurch in einigen Fällen die Core-Peptide isoliert werden konnten (Abb. 10). In manchen Fällen gelang das jedoch nicht. Die Sequenzierung dieses Bereiches der Ketten erfolgte dann an dem durch saure Hydrolyse der Asp-Pro-Bindungen zwischen den Positionen α94-95 bzw. β99-100 erhaltenen Prolylpeptiden. Bei der Chromatographie über Sephadex G-50 Fine in 8M Harnstoff/10% Ameisensäure wurden neben etwas ungespaltenem Material die beiden Bruchstücke der Ketten erhalten (Abb. 11).

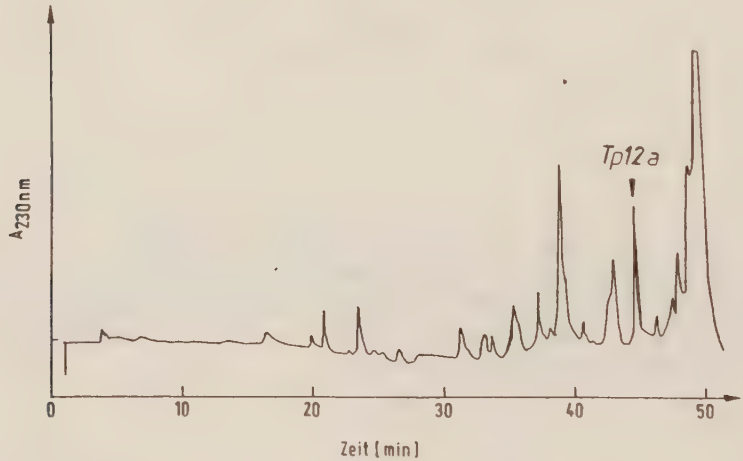


Abb. 10: Hardwicke-Klappnase, β-Ketten: Gewinnung des βTp 12a aus der Core-Fraktion, nach Oxidation mit Perameisensäure. Säule: 0.46 cm x 25 cm Vydac RP 18. 0.1% Trifluoressigsäure statt Puffer. Gradient: Acetonitril, 0-40% in 40 min, danach 60%. Durchflußgeschwindigkeit: 1 ml/min.

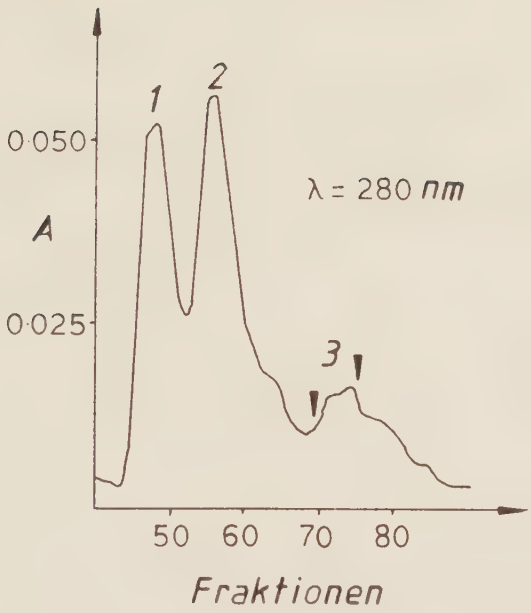


Abb. 11: Alpenmurmeltier, α-Ketten: Asp-Pro Spaltung. Trennung an Sephadex G-50 Fine (1.6 cm x 130 cm). Fließmittel: 8M Harnstoff in 10% Ameisensäure. Durchflußgeschwindigkeit: 9 ml/h = 3 Fraktionen. 1: Ungespaltene Kette, 2: N-terminales Peptid, 3: Prolylpeptid.

3.1.3.2. Gewinnung der tryptischen Peptide aus oxidierten Ketten

3.1.3.2.1 Mit Sephadex-Vortrennung

Um die Probleme bei der Isolierung der Core-Peptide zu umgehen, wurden bei *Pteropus poliocephalus* die Ketten vor der tryptischen Spaltung oxidiert. Durch die Überführung von Cystein in Cysteinsäure wurde sowohl die Löslichkeit der Ketten als auch die der sehr hydrophoben Core-Peptide erhöht. Außerdem wurde bei αTp13 eine deutlich bessere Ausbeute erreicht. Der erste Sephadex-Gipfel enthielt nicht nur αTp9 und αTp8+9, sondern auch αTp12 (Abb. 12). Die Trennung dieser Peptide war durch HPLC möglich (Abb.13). Bei den β-Ketten konnte Tp12a zusammen mit Tp3a+b, Tp5, Tp8+9, Tp10b+11 und Tp14 durch Sephadex-Vortrennung gewonnen und anschließend durch HPLC in reiner Form isoliert werden. In Position 139 wurden bei den β-Ketten sowohl Ala als auch Thr gefunden. Das Verhältnis der Ausbeuten der beiden tryptischen Peptide (Tp 14) war 1:1, was auf ein gleiches molares Verhältnis der beiden Hämoglobinkomponenten hinweist.

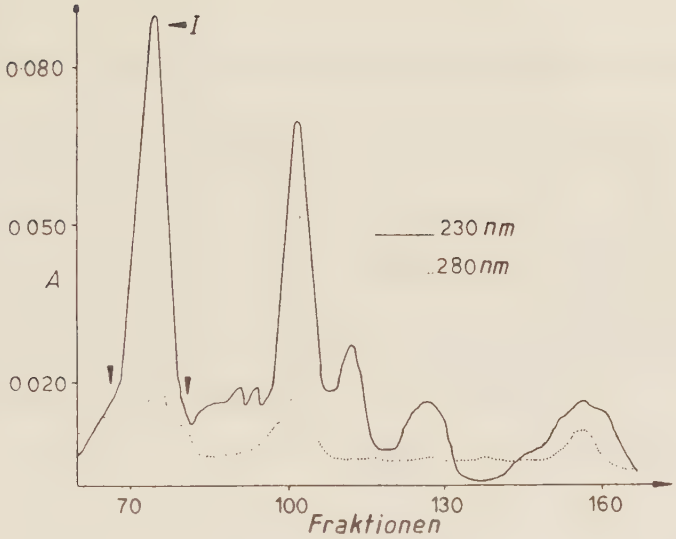


Abb. 12: Graukopf-Flughund, oxidierte α-Ketten: Vortrennung der tryptischen Peptide an Sephadex G-25 Fine (Bedingungen s. Abb. 6 & 7). Fraktion 1 enthält Tp 8+9, Tp 9 und Tp 12.

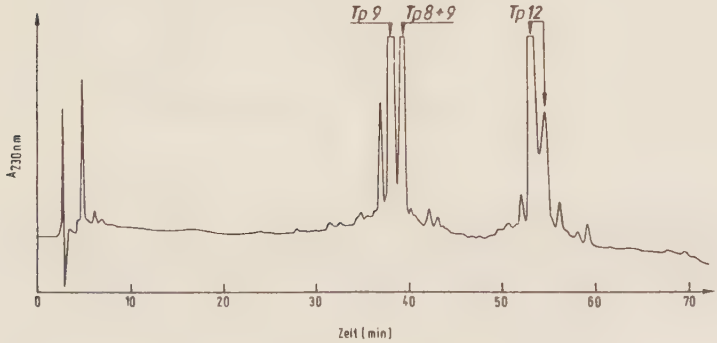


Abb. 13: Graukopf-Flughund, oxidierte α-Ketten: Gewinnung der Peptide αTp8+9, αTp9 und αTp12 durch HPLC der Fraktion i (Abb. 11). Bedingungen s. Abb. 8 & 9.

P *3.1.3.2.2. Ohne Sephadex-Vortrennung*

Bei der Fledermaus *Rhinopoma hardwickei* wurde das tryptische Hydrolysat der α-Ketten ausschließlich durch HPLC getrennt. Für die Chromatographie an RP2 in 50mM Ammoniumacetat wurde dabei ein flacherer Acetonitril-Gradient verwendet (Abb. 14). Da die Dünnschichtelektrophorese zeigte, daß die ersten Gipfel mehrere Peptide enthielten, wurden diese über Vydac RP18 in 0.1% Trifluoressigsäure mit isokratischer Elution rechromatographiert.

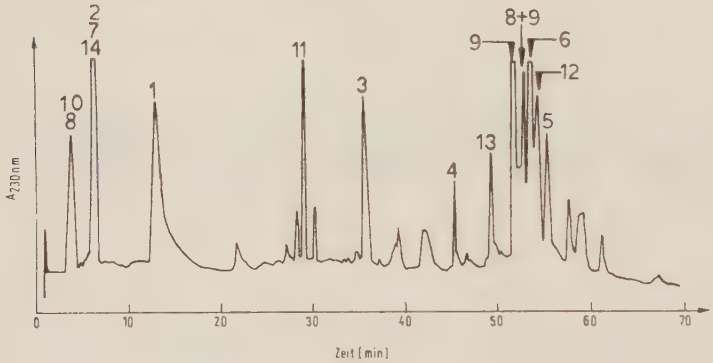


Abb. 14: Hardwicke-Klappnase, oxidierte α-Ketten: Trennung der tryptischen Peptide mittels HPLC (ohne Sephadex-Vortrennung). Bedingungen wie bei Abb. 8 & 9, mit Ausnahme des Gradienten (0-40% in 60 min, danach 40-60% in 15 min).

3.1.4. Die Sequenzierung der untersuchten Säuger-Hämoglobine

3.1.4.1. Alpenmurmeltier (Marmota marmota marmota)

Die Kettentrennung erfolgte durch HPLC mit einem AcetonitrilGradienten von 35-55% in 50 min. Beide Ketten wurden nativ gespalten. Aus dem Core der α-Ketten konnte nach Oxidation das αTp12 isoliert werden. Bei den β-Ketten wurde das Prolylpeptid isoliert und sequenziert.

3.1.4.2. Kurznasen-Flughund (Cynopterus sphinx)

Alle Angaben von 3.1.4.1. gelten auch hier.

3.1.4.3. Graukopf-Flughund (Pteropus poliocephalus)

Die Kettentrennung wurde wie in 3.1.4.1. beschrieben durchgeführt. Die Sequenzierung wurde schon in 3.1.3.2.1. beschrieben.

3.1.4.4. Lyra-Fledermaus (Megaderma lyra)

Alle Angaben von 3.1.4.1. gelten auch hier.

3.1.4.5. Hardwicke-Klappnase (Rhinopoma hardwickei)

Die Kettentrennung wurde wie in 3.1.4.1. beschrieben durchgeführt. Die α-Ketten wurden oxidiert gespalten und das Hydrolysat mittels HPLC getrennt. Ein Acetonitril-Gradient von 0-40% in 60 min, danach 40-60% in 15 min wurde verwendet (Abb. 14). Die β-Ketten wurden nativ gespalten und die Peptide mittels Gelfiltration vorgetrennt. Aus dem Core konnte nach Oxidation βTp12a isoliert werden (Abb. 10).

3.1.4.6. Sequenzierungsstrategie der Globinketten

→: Sequenzierte bereiche

TABELLE 1. Marmota marmota marmota, α-Kette

```
                                                  10
Val-Leu-Ser-Pro-Ala-Asp-Lys-Thr-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-
_____________________________→_____________________________
<-----------Tp 1----------> <-----Tp 2----> <---Tp 3----
                      20
Glu-Lys-Ile-Gly-Gly-His-Gly-Ala-Ala-Tyr-Gly-Ala-Glu-Ala-
_____________________________→_____________________________
------> <---------------------Tp 4----------------------
    30                                          40
Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-Thr-Lys-Thr-Tyr-
_____________________________→_____________________________
---Tp 4---> <---------------Tp 5--------------> →→→→→→→→
                                                  <-------
                                 50
Phe-Pro-His-Phe-Asp-Leu-Ser-His-Gly-Ser-Ala-Gln-Ile-Gln-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
-------------------------Tp 6+7-------------------------
            60                                          70
Gly-His-Gly-Lys-Lys-Val-Ala-Asp-Ala-Leu-Ala-Asn-Ala-Ala-

→→→→→→→→→→→→→→→     →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
----Tp 6+7----><Tp8><----------------Tp 9---------------
                                        80
Ala-His-Val-Asp-Asp-Leu-Pro-Ser-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--------------------------Tp 9--------------------------
                      90
Asp-Leu-His-Ala-His-Lys-Leu-Arg-Val-Asp-Pro-Val-Asn-Phe-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→          →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
---------Tp 9---------> <Tp 10> <----------Tp 11--------
    100                                         110
Lys-Leu-Leu-Ser-His-Cys-Leu-Leu-Val-Thr-Leu-Ala-Ala-His-

→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--> <---------------------Tp 12-------------------------
                                 120
His-Pro-Ala-Glu-Phe-Thr-Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--------------------------Tp 12-------------------------
            130                                         140
Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Ser-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg

→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--> <-----------------------Tp 13-----------------> <Tp 14>
```

TABELLE 2. Marmota marmota marmota, β-Kette

```
                                    10
Val-His-Leu-Ser-Asp-Gly-Glu-Lys-Asn-Ala-Ile-Ser-Thr-Ala-
_____________________________→__________________________
<--------------Tp 1-----------> <----------Tp 2---------
                    20
Trp-Gly-Lys-Val-Asn-Ala-Ala-Asp-Ile-Gly-Ala-Glu-Ala-Leu-
_____________________________→__________________________
---Tp 2---> <---------------------Tp 3------------------
    30                                      40
Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-
_____________________________→__________________________
------> <----------------Tp 4-----------------> →→→→→→→→
                                                <-------
                            50
Asp-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-Ser-Ser-Ala-Ser-Ala-Val-Met-Gly-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--------------------------Tp 5--------------------------
            60                                      70
Asn-Ala-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Ile-Asp-Ser-

→→→→→→→→→→→         →→→→→→→→→→→→→→→     →→→→→→→→→→→→→→→→
--Tp 5----> <Tp  6> <-----Tp 7----><Tp8><------Tp 9a----
                                    80
Phe-Ser-Asn-Gly-Leu-Lys-His-Leu-Asp-Asn-Leu-Lys-Gly-Thr-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→
-------Tp 9a----------> <--------Tp 9b--------> <-------
                    90
Phe-Ala-Ser-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→
----------------Tp 10---------------------> <---Tp 11---
    100                                     110
Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Lys-Leu-Leu-Gly-Asn-Met-Ile-Val-Ile-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--------Tp 11---------> <------------Tp 12--------------
    →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
    <--------------------------DP-----------------------
                            120
Val-Met-Ala-His-His-Leu-Gly-Lys-Asp-Phe-Thr-Pro-Glu-Ala-

                                →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
----------Tp 12---------------> <--------------Tp 13----
→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
-----------------DP------------------->
            130                                     140
Gln-Ala-Ala-Phe-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Asn-Ala-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
------Tp 13-----------> <-----------------Tp 14---------
Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His

→→→→→→→→→→→→→→→
-----Tp 14----> <Tp 15>
```

TABELLE 3. Cynopterus sphinx, α-Kette

```
                                   10
Val-Leu-Ser-Pro-Ala-Asp-Lys-Thr-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-
_____________________________→_________________________
<------------Tp 1---------> <----Tp 2-----> <----Tp 3---
                     20
Asp-Lys-Val-Gly-Gly-Asn-Ala-Gly-Glu-Tyr-Gly-Ala-Glu-Ala-
_____________________________→_________________________
------> <----------------------Tp 4---------------------
    30                                      40
Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-Thr-Lys-Thr-Tyr-
_____________________________→_________________________
---Tp 4---> <---------------Tp 5--------------> →→→→→→→→
                                                <--Tp 6-
                               50
Phe-Pro-His-Phe-Asp-Leu-Ala-His-Gly-Ser-Pro-Gln-Val-Lys-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--------------------------Tp 6----------------------->
           60                                       70
Gly-His-Gly-Lys-Lys-Val-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr-Asn-Ala-Val-

→→→→→→→→→→→→→→→     →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
<-----Tp 7----><Tp8><-----------------Tp 9-------------
                                   80
Ser-His-Ile-Asp-Asp-Leu-Pro-Gly-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--------------------------Tp 9-------------------------
                    90
Asp-Leu-His-Ala-Tyr-Lys-Leu-Arg-Val-Asp-Pro-Val-Asn-Phe-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→              →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--------Tp 9-----------> <Tp 10> <----------Tp 11--------
                                         →→→→→→→→→→→→→→→→
                                         <------DP-------
    100                                      110
Lys-Leu-Leu-Ser-His-Cys-Leu-Leu-Val-Thr-Leu-Ala-Asn-His-

→→→
--> <-------------------- Tp 12------------------------
→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
---------------------------DP--------------------------
                               120
Leu-Pro-Ser-Asp-Phe-Thr-Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-

-------------------------Tp 12-------------------------
→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
---------------------------DP--------------------------
           130                                     140
Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Ser-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg

    →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--> <-------------------Tp 13-------------------> <Tp 14>
→→→→→→→→→→→
---DP----->
```

TABELLE 4. Cynopterus sphinx, β-Kette

```
                                                10
Val-His-Leu-Ser-Gly-Glu-Glu-Lys-Ser-Ala-Val-Thr-Ser-Leu-
_____________________________________→_____________________
<--------------Tp 1-----------> <----------Tp 2---------
                        20
Trp-Gly-Lys-Val-Lys-Val-Asp-Glu-Val-Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-
_____________________________________→_____________________
---Tp 2---> <Tp 3a> <---------------Tp 3b---------------
    30                                          40
Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-
_____________________________________→_____________________
------> <---------------Tp 4------------------> ++++++++
                                                <--Tp 5-
                                50
Asp-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-Ser-Ser-Ala-Ser-Ala-Val-Met-Gly-

++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
--------------------------Tp 5--------------------------
            60                                          70
Asn-Ala-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Asp-Ser-

++++++++++++          +++++++++++++++     +++++++++++++++++
---Tp 5---> <Tp  6> <-----Tp 7----><Tp8><------Tp 9-----
                                            80
Phe-Ser-Glu-Gly-Leu-Gln-His-Leu-Asp-Ser-Leu-Lys-Gly-Thr-

++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++ ++++++++
---------------------Tp 9---------------------> <-Tp 10a
                        90
Phe-Ala-Lys-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-

++++++++++++ ++++++++++++++++++++++++++++++++ ++++++++++++
--Tp 10a--> <-----------Tp 10b------------> <---Tp 11---
    100                                         110
Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Arg-Leu-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Val-Val-

++++++++++++++++++++++++
-------Tp 11----------> <-------------Tp 12a------------
    ++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
    <----------------------------DP--------------------
                                120
Val-Leu-Ala-Arg-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-Pro-Gln-Leu-

                  +++++++++++++++ ++++++++++++++++++++++++
----Tp 12a----> <---Tp 12b----> <----------Tp 13--------
++++++++++++++++++++++++
---------DP----------->
            130                                         140
Gln-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Thr-Ala-

++++++++++++++++++++++++ +++++++++++++++++++++++++++++++++
-----------Tp 13------> <--------------Tp 14------------
Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His

++++++++++++++++
---Tp 14------> <Tp 15>
```

TABELLE 5. Pteropus poliocephalus, α-Kette

```
                                                10
Val-Leu-Ser-Ser-Thr-Asp-Lys-Ser-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-
_____________________________________→_____________________
<-----------Tp 1----------> <-----Tp 2----> <---Tp 3----
                        20
Asp-Lys-Val-Gly-Gly-Asn-Val-Gly-Glu-Tyr-Gly-Ala-Glu-Ala-
_____________________________________→_____________________
------> <-----------------------Tp 4---------------------
    30                                          40
Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-Thr-Lys-Thr-Tyr-
_____________________________________→_____________________
---Tp 4---> <---------------Tp 5--------------> ++++++++
                                                <--Tp 6-
                                50
Phe-Pro-His-Phe-Asp-Leu-Ala-His-Gly-Ser-Ser-Gln-Val-Lys-

++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
-----------------------Tp 6--------------------------->
            60                                          70
Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr-Asn-Ala-Val-

++++++++++++++++     ++++++++++++++++++++++++++++++++++
<----Tp 7-----><Tp8><---------------Tp 9----------------
                                    80
Gly-His-Met-Asp-Asp-Leu-Pro-Gly-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-

++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
--------------------------Tp 9--------------------------
                        90
Asp-Leu-His-Ala-Tyr-Lys-Leu-Arg-Val-Asp-Pro-Val-Asn-Phe-

++++++++++++++++++++++++          ++++++++++++++++++++++
-------Tp 9-----------> <Tp 10> <----------Tp 11--------
    100                                         110
Lys-Leu-Leu-Ser-His-Cys-Leu-Leu-Val-Thr-Leu-Ala-Asn-His-

+++ ++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
--> <-----------------------Tp 12-----------------------
                            120
Leu-Pro-Asn-Asp-Phe-Thr-Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-

++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
----------------------------Tp 12-----------------------
            130                                         140
Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Ser-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg

+++ ++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
--> <--------------------Tp 13--------------------> <Tp 14>
```

TABELLE 6. Pteropus poliocephalus, β-Kette

```
                                    10
Val-His-Leu-Ser-Gly-Glu-Glu-Lys-Ala-Ala-Val-Thr-Gly-Leu-
______________________________→_________________________
<--------------Tp 1-----------> <----------Tp 2---------
                    20
Trp-Gly-Lys-Val-Lys-Val-Asp-Glu-Val-Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-
______________________________→_________________________
---Tp 2---> <Tp 3a> <---------------Tp 3b---------------
    30                                      40
Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-
______________________________→_________________________
------> <---------------------Tp 4------------> →→→→→→→→
                                                <--Tp 5-
                            50
Asp-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-Ser-Ser-Ala-Pro-Ala-Val-Met-Gly-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
-----------------------Tp 5-----------------------------
            60                                      70
Asn-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Asp-Ser-

→→→→→→→→→→→         →→→→→→→→→→→→→→→    →→→→→→→→→→→→→→→→
---Tp 5---> <Tp  6> <----Tp 7-----><Tp8><----Tp 9-------
                                    80
Phe-Ser-Glu-Gly-Leu-Gln-His-Leu-Asp-Asn-Leu-Lys-Gly-Thr-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→
-----------------------Tp 9-------------------> <-------
                    90
Phe-Ala-Lys-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-

→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→
--Tp 10a--> <------------Tp 10b-----------> <---Tp 11---
    100                                     110
Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Arg-Leu-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Val-Cys-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
-------Tp 11-----------> <--------------Tp 12a----------
                            120
Val-Leu-Ala-Arg-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-Pro-Gln-Val-

→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
----Tp 12a----> <----Tp 12b---> <----------Tp 13--------
            130                                     140
Gln-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Thr-Ala-
                                                Asn
→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
-------Tp 13-----------> <-----------------Tp 14--------
Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His

→→→→→→→→→→→→→→→
---Tp 14------> <Tp 15>
```

TABELLE 7. Megaderma lyra, α-Kette

```
                                        10
Val-Leu-Ser-Ala-Ala-Asp-Lys-Ala-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Phe-
____________________________________→_____________________
<----------Tp 1------------> <----Tp 2-----> <---Tp 3----
                    20
Asp-Lys-Val-Gly-Gly-Gln-Ala-Gly-Asp-Tyr-Gly-Ala-Glu-Ala-
____________________________________→_____________________
------> <--------------------Tp 4-----------------------
    30                                      40
Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-Thr-Lys-Thr-Tyr-
____________________________________→_____________________
--Tp 4----> <-------------Tp 5----------------> ++++++++
                                                <--Tp 6-
                                50
Phe-Pro-His-Phe-Asp-Leu-Ser-His-Gly-Ser-Ala-Gln-Val-Lys-

++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
---------------------------Tp 6------------------------>
            60                                      70
Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Gly-Asp-Ala-Leu-Val-Asn-Ala-Val-

++++++++++++++++     ++++++++++++++++++++++++++++++++++
<----Tp 7-----><Tp8><----------------Tp 9---------------
                                        80
Gly-His-Leu-Asp-Asp-Leu-Pro-Gly-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-

++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
--------------------------Tp 9--------------------------
                    90
Asp-Leu-His-Ala-Tyr-Lys-Leu-Arg-Val-Asp-Pro-Val-Asn-Phe-

++++++++++++++++++++++++          ++++++++++++++++++++++
----------Tp 9--------> <Tp 10> <----------Tp 11--------
                                          ++++++++++++++++
                                          <--------DP-----
    100                                         110
Lys-Leu-Ala-Ser-Asn-Val-Leu-Leu-Val-Thr-Leu-Ala-Val-His-

+++
-->
++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
----------------------------DP--------------------------
                                120
Val-Ala-Ala-Gly-Phe-Thr-Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-


++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
-----------------------------DP-------------------------
            130                                     140
Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Gly-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg

    ++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++ <Tp 14>
    <---------------------Tp 13------------------->
+++++++
----DP---->
```

TABELLE 8. Megaderma lyra, β-Kette

```
                                                  10
Val-His-Leu-Thr-Asn-Glu-Glu-Lys-Thr-Ala-Val-Ile-Gly-Leu-
_____________________________→_____________________________
<---------------Tp 1----------> <---------Tp 2----------
                        20
Trp-Gly-Lys-Val-Asn-Val-Glu-Glu-Val-Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-
_____________________________→_____________________________
---Tp 2---> <------------------Tp 3---------------------
    30                                          40
Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-
_____________________________→_____________________________
------> <---------------Tp 4------------------> →→→→→→→→
                                                  <--Tp 5-
                                50
Glu-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-Ser-Ser-Pro-Ser-Ala-Ile-Met-Gly-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
-------------------------Tp 5---------------------------
            60                                          70
Asn-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Asn-Ser-

→→→→→→→→→→→          →→→→→→→→→→→→→→→     →→→→→→→→→→→→→→→→
---Tp 5---> <Tp  6> <----Tp 7-----><Tp8><-----Tp 9a-----
                                        80
Phe-Ser-Glu-Gly-Leu-Lys-Asn-Leu-Asp-Asn-Leu-Lys-Gly-Thr-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→
--------Tp 9a---------> <--------Tp 9b--------> <-Tp 10a
                        90
Phe-Ala-Lys-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-

→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→
--Tp 10a--> <------------Tp 10b-----------> <---Tp 11---
    100                                         110
Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Arg-Leu-Leu-Gly-Tyr-Ile-Leu-Leu-Cys-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
---------Tp 11--------> <--------------Tp 12a-----------
    →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
    <-------------------------DP-------------------------
                                120
Val-Leu-Ala-Arg-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-Pro-Gln-Val-

                  →→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
----Tp 12a----> <---Tp 12b----> <-----------Tp 13-------
→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
-------DP-------------->
            130                                         140
Gln-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Thr-Ala-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--------Tp 13---------> <--------------Tp 14------------
Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His

→→→→→→→→→→→→→→→
----Tp 14-----> <Tp 15>
```

TABELLE 9. Rhinopoma hardwickei, α-Kette

```
                                                  10
Val-Leu-Ser-Pro-Ala-Asp-Lys-Ala-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-
_____________________________→_____________________________
<----------Tp 1-----------> <----Tp 2-----> <---Tp 3----
                    20
Asp-Lys-Val-Gly-Ala-His-Ala-Gly-Asp-Tyr-Gly-Ala-Glu-Ala-
_____________________________→_____________________________
------> <--------------------Tp 4-----------------------
    30                                          40
Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-Thr-Lys-Thr-Tyr-
_____________________________→_____________________________
---Tp 4---> <---------------Tp 5--------------> →→→→→→→→
                                                  <--Tp 6-
                                50
Phe-Pro-His-Phe-Asp-Leu-Ala-His-Gly-Ser-Ala-Gln-Val-Lys-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
----------------------------Tp 6---------------------->
            60                                          70
Gly-His-Gly-Lys-Lys-Val-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr-Asn-Ala-Val-

→→→→→→→→→→→→→→→     →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
<----Tp 7----><Tp8><--------------Tp 9-----------------
                                        80
Gly-His-Met-Asp-Asp-Leu-Pro-Gly-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
----------------------------Tp 9-----------------------
                    90
Asp-Leu-His-Ala-Tyr-Lys-Leu-Arg-Val-Asp-Pro-Val-Asn-Phe-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→          →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--------Tp 9----------> <Tp 10> <---------Tp 11---------
    100                                         110
Lys-Leu-Leu-Ser-His-Cys-Leu-Leu-Val-Thr-Leu-Ala-Ala-His-

→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--> <-----------------------Tp 12-----------------------
                                120
Leu-Pro-Ser-Glu-Phe-Thr-Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-

→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
----------------------------Tp 12-----------------------
            130                                         140
Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Ser-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg

→→→ →→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→→
--> <-------------------Tp 13--------------------> <Tp 14>
```

TABELLE 10. Rhinopoma hardwickei, β-Kette

```
                                                10
Val-His-Leu-Thr-Gly-Glu-Glu-Lys-Ser-Ala-Val-Thr-Gly-Leu-
_____________________________________→_____________________________
<------------Tp 1-------------> <----------Tp 2---------
                        20
Trp-Gly-Lys-Val-Asn-Val-Asp-Glu-Val-Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-
_____________________________________→_____________________________
---Tp 2---> <-------------------Tp 3----------------------
    30                                          40
Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-
_____________________________________→_____________________________
------> <-------------------Tp 4---------------> ++++++++
                                                  <--Tp 5-
                                50
Asp-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-Ser-Ser-Pro-Ser-Ala-Val-Met-Gly-

++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
---------------------------Tp 5-------------------------
            60                                          70
Asn-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Asn-Ser-

++++++++++++          +++++++++++++++     +++++++++++++++++
---Tp 5---> <Tp  6> <-----Tp 7----><Tp8><------Tp 9-----
                                        80
Phe-Ser-Glu-Gly-Leu-Gln-Asn-Leu-Asp-Asn-Leu-Lys-Gly-Thr-

++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++++ ++++++++
------------------------Tp 9------------------> <-Tp 10a
                        90
Tyr-Ala-Lys-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-

++++++++++++ +++++++++++++++++++++++++++++++++++ +++++++++++++
--Tp 10a--> <-----------Tp 10b------------> <---Tp 11---
    100                                         110
Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Arg-Leu-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Val-Cys-

++++++++++++++++++++++++ +++++++++++++++++++++++++++++++++++
--------Tp 11---------> <-------------Tp 12a------------
                                120
Val-Leu-Ala-Arg-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-Pro-Glu-Val-

++++++++++++++++ +++++++++++++++++ ++++++++++++++++++++++++++
----Tp 12a----> <---Tp 12b----> <----------Tp 13---------
                        130                             140
Glu-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Thr-Ala-

++++++++++++++++++++++++ +++++++++++++++++++++++++++++++++++
----------Tp 13-------> <-------------Tp 14-------------
Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His

++++++++++++++++
-----Tp 14----> <Tp 15>
```

3.1.4.7. Analysen der Säuger-Hämoglobine

TABELLE 11. Marmota marmota marmota, α -Kette

Peptid Pos.	Tp 1 1-7	Tp 2 8-11	Tp 3 12-16	Tp 4 17-31	Tp 5 32-40	Tp 6+7 41-60	Tp 8 61	Tp 9 62-90	Tp 10 91-92	Tp 11 93-99	Tp 12 100-127	Tp 13 128-139	Tp 14 140-141	Globin
Asp	1.03	1.01	-	-	-	1.02	-	5.13	-	2.13	1.42 (1)	-	-	11.42 (11)
Thr	-	1.05	-	-	2.00	0.96	-	-	-	-	1.82 (2)	1.94	-	8.02 (8)
Ser	0.86	-	-	-	0.96	1.79	-	2.77	-	-	1.89 (2)	2.86	-	11.87 (12)
Glu	-	-	1.08	1.99	-	2.01	-	-	-	-	1.11 (1)	-	-	6.39 (6)
Pro	0.99	-	-	-	1.04	0.92	-	0.74	-	0.90	1.72 (2)	-	-	7.15 (7)
Gly	-	-	-	4.33	-	3.05	-	-	-	-	-	-	-	7.08 (7)
Ala	0.97	-	2.13	3.98	-	1.04	-	9.10	-	-	5.40 (5)	1.11	-	23.14 (23)
Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.04 (1)	-	-	* 0.61 (1)
Val	0.98	0.94	-	-	-	-	-	1.90	-	2.04	1.84 (2)	2.15	-	10.27 (10)
Met	-	-	-	-	0.90	-	-	-	-	-	-	-	-	* 0.75 (1)
Ile	-	-	-	0.91	-	0.96	-	-	-	-	-	-	-	2.05 (2)
Leu	1.19	-	-	1.01	1.14	1.12	-	5.13	0.98	-	5.81 (6)	1.84	-	18.27 (18)
Tyr	-	-	-	0.90	-	0.96	-	-	-	-	-	-	0.93	2.74 (3)
Phe	-	-	-	-	1.96	1.96	-	-	-	0.97	1.12 (1)	1.00	-	6.85 (7)
His	-	-	-	0.96	-	3.14	-	2.93	-	-	3.68 (4)	-	-	11.42 (11)
Trp	-	-	0.70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.06 (1)
Lys	0.98	0.99	1.09	-	0.99	1.07	1.00	1.00	-	0.97	1.15 (1)	1.11	-	10.27 (10)
Arg	-	-	-	0.92	-	-	-	-	1.02	-	-	-	1.06	3.16 (3)
Summe	7	4	5	15	9	20	1	29	2	7	28	12	2	141

* Nach Oxidation bestimmt.

TABELLE 12. Marmota marmota marmota, β-Kette

Peptid Pos.	Tp 1 1-8	Tp 2 9-17	Tp 3 18-30	Tp 4 31-40	Tp 5 41-59	Tp 6 60-61	Tp 7 62-65	Tp 8 66	Tp 9a 67-76	Tp 9b 77-82	Tp 10+11 83-104	Tp 11 96-104	Tp 13 121-132
Asp	1.01	1.10	1.88	-	3.20	-	-	-	2.23 (2)	2.02	2.89 (3)	2.01	1.02
Thr	-	1.03	-	1.12	-	-	-	-	-	-	0.86 (1)	-	0.94
Ser	0.84	0.97	-	-	3.51 (4)	-	-	-	1.90 (2)	-	1.70 (2)	-	-
Glu	0.95	-	1.07	1.14	-	-	-	-	-	-	1.84 (2)	1.17	2.96
Pro	-	-	-	0.74	-	-	-	-	-	-	0.79 (1)	0.88	1.11
Gly	0.98	1.06	2.04	-	2.13	-	0.98	-	1.19 (1)	-	1.26 (1)	-	-
Ala	-	2.15	4.02	-	3.20	-	0.98	-	-	-	1.21 (1)	-	2.92
Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.03 (1)	-	-
Val	0.87	-	1.10	1.57 (2)	1.07	1.03	-	-	0.74 (1)	-	0.97 (1)	1.14	-
Met	-	-	-	-	0.71	-	-	-	-	-	-	-	-
Ile	-	1.01	0.90	-	-	-	-	-	0.62 (1)	-	-	-	-
Leu	1.33	-	1.02	2.16	1.10	-	-	-	1.24 (1)	2.03	3.36 (3)	1.14	-
Tyr	-	-	-	1.23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phe	-	-	-	-	3.01	-	-	-	1.02 (1)	-	1.95 (2)	1.00	2.00
His	1.03	-	-	-	-	-	0.89	-	-	0.97	1.89 (2)	0.78	-
Trp	-	0.64	-	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys	0.99	1.02	-	-	1.08	0.97	1.15	1.00	1.06 (1)	0.98	1.90 (2)	0.86	1.04
Arg	-	-	0.97	1.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Summe	8	9	13	10	19	2	4	1	10	6	22	9	12

Peptide Pos.	Tp 14 133-144	Tp 15 145-146	Prolyl-Peptid 100-146	Globin
Asp	0.76 (1)	-	4.19 (4)	17.48 (18)
Thr	-	-	1.13 (1)	4.04 (4)
Ser	-	-	-	9.57 (10)
Glu	-	-	3.84 (4)	8.39 (8)
Pro	-	-	1.99 (2)	3.02 (3)
Gly	1.19 (1)	-	3.34 (3)	12.48 (12)
Ala	4.37 (4)	-	8.23 (8)	19.50 (19)
Cys	-	-	-	* 0.55 (1)
Val	2.50 (3)	-	4.63 (5)	12.72 (13)
Met	-	-	1.85 (2)	* 2.23 (2)
Ile	-	-	1.44 (2)	4.87 (5)
Leu	1.31 (1)	-	4.59 (4)	15.44 (15)
Tyr	-	0.91	0.93 (1)	2.43 (2)
Phe	-	-	3.06 (3)	8.36 (8)
His	0.74 (1)	1.09	4.41 (4)	9.52 (9)
Trp	-	-	-	2.16 (2)
Lys	1.14 (1)	-	4.36 (4)	13.56 (13)
Arg	-	-	-	2.06 (2)
Summe	12	2	47	146

* Nach Oxidation bestimmt.

TABELLE 13. Cynopterus sphinx, α -Kette

Peptid Pos.	Tp 1 1-7	Tp2 8-11	Tp 3 12-16	Tp4 17-31	Tp 5 32-40	Tp 6 41-56	Tp 7 57-60	Tp 8 61	Tp 9 62-90	Tp 8+9 61-90	Tp 10 91-92	Tp 11 93-99	Tp 12 100-127	Tp 13 128-139
Asp	1.03	1.04	1.12	0.94	-	1.04	-	-	4.86	5.20	-	1.97	3.15	-
Thr	-	0.96	-	-	1.96	0.96	-	-	0.96	0.96	-	-	2.01	1.89
Ser	0.92	-	-	-	0.97	0.93	-	-	2.77	2.81	-	-	2.58 (3)	2.73
Glu	-	-	-	2.87	-	1.09	-	-	-	-	-	-	-	-
Pro	1.00	-	-	-	1.05	2.13	-	-	1.14	1.40	-	1.00	1.72	-
Gly	-	-	-	3.60 (4)	-	1.08	1.87	-	2.06	2.08	-	-	-	-
Ala	0.98	-	2.23	2.87	-	1.05	-	-	5.02	5.03	-	-	2.79	1.04
Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.84	-
Val	0.99	0.95	-	0.98	-	1.05	-	-	2.05	1.92	-	2.03	1.77	2.10
Met	-	-	-	-	0.96	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ile	-	-	-	-	-	-	-	-	0.96	0.98	-	-	-	-
Leu	1.03	-	-	0.99	1.05	1.07	-	-	5.33 (5)	5.33	1.08	-	6.51 (7)	2.16
Tyr	-	-	-	0.89	-	0.30 (1)	-	-	1.08	1.11	-	-	-	-
Phe	-	-	-	-	1.95	2.08	-	-	-	-	-	0.97	1.22	1.01
His	-	-	-	-	-	2.19	1.02	-	2.40 (2)	2.26	-	-	3.20	-
Trp	-	-	0.60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys	1.00	1.05	1.12	-	1.06	1.04	1.12	1.00	1.11	1.98	-	1.02	1.31	1.07
Arg	-	-	-	0.94	-	-	-	-	-	-	0.92	-	-	-
Summe	7	4	5	15	9	16	4	1	29	30	2	7	28	12

Peptid Pos.	Tp 14 140-141	Globin
Asp	-	14.19 (15)
Thr	-	8.11 (9)
Ser	-	11.34 (12)
Glu	-	5.18 (4)
Pro	-	7.37 (8)
Gly	-	9.78 (9)
Ala	-	15.98 (16)
Cys	-	* 0.92 (1)
Val	-	12.37 (12)
Met	-	* 0.95 (1)
Ile	-	0.75 (1)
Leu	-	18.95 (19)
Tyr	0.97	3.80 (4)
Phe	-	7.24 (7)
His	-	8.41 (8)
Trp	-	1.30 (1)
Lys	-	11.64 (11)
Arg	1.03	3.25 (3)
Summe	2	141

* Nach Oxidation bestimmt.

TABELLE 14. Cynopterus sphinx, β-Kette

Peptid Pos.	Tp 1 1-8	Tp 2 9-17	Tp 3a 18-19	Tp 3b 20-30	Tp 3a+b 18-30	Tp 4 31-40	Tp 5 41-59	Tp 6 60-61	Tp 7 62-65	Tp 8 66	Tp 9 67-82	Tp 8+9 66-82	Tp 10a 83-87	Tp 11 96-104
Asp	-	-	-	0.97	1.00	-	3.22	-	-	-	2.03	2.06	-	2.09
Thr	-	1.06	-	-	-	1.12	-	-	-	-	-	-	0.97	-
Ser	0.89	2.06	-	-	-	-	3.24 (4)	-	-	-	2.60 (3)	2.62	-	-
Glu	2.18	-	-	2.13	2.11	1.28	-	-	-	-	2.17	2.12	-	1.21
Pro	-	-	-	-	-	1.37	-	-	-	-	-	-	-	1.20
Gly	1.05	1.20	-	3.01	3.01	-	2.11	-	1.00	-	1.03	1.13	1.01	-
Ala	-	1.18	-	1.04	0.98	-	2.97	-	0.95	-	-	-	1.02	-
Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Val	0.89	1.17	1.08	1.96	2.98	1.82	1.38	1.08	-	-	1.04	1.04	-	1.01
Met	-	-	-	-	-	-	0.53 (1)	-	-	-	-	-	-	-
Ile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leu	1.05	1.19	-	0.97	1.01	2.43 (2)	1.63 (1)	-	-	-	4.19	4.00	-	0.91
Tyr	-	-	-	-	-	0.88	-	-	-	-	-	-	-	-
Phe	-	-	-	-	-	-	2.82	-	-	-	0.94	1.00	0.96	0.93
His	0.93	-	-	-	-	-	-	-	0.96	-	1.00	1.04	-	0.88
Trp	-	(1)	-	-	-	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys	1.01	1.14	1.12	-	0.93	-	1.10	1.12	1.09	1.00	0.98	1.99	1.03	-
Arg	-	-	-	0.91	0.98	1.10	-	-	-	-	-	-	-	0.77
Summe	8	9	2	11	13	10	19	2	4	1	16	17	5	9

Peptid Pos.	Tp 10b+11 88-104	Tp 12b 117-120	Tp 13 121-132	Tp 14 133-144	Tp 15 145-146	Globin
Asp	2.97	-	-	-	-	10.10 (10)
Thr	-	-	1.04	1.00	-	4.50 (5)
Ser	0.97	-	-	-	-	10.27 (11)
Glu	2.15	-	4.40	-	-	13.45 (13)
Pro	1.09	-	1.01	-	-	3.10 (3)
Gly	-	1.04	-	1.06	-	12.78 (13)
Ala	-	-	2.09	4.13	-	14.10 (14)
Cys	0.61	-	-	-	-	* 0.78 (1)
Val	1.04	-	-	2.58 (3)	-	17.30 (18)
Met	-	-	-	-	-	* 0.89 (1)
Ile	-	-	-	-	-	- (0)
Leu	3.24	-	1.17	1.17	-	19.60 (19)
Tyr	-	-	0.94	-	0.98	2.97 (3)
Phe	0.96	0.98	1.07	-	-	8.34 (8)
His	1.96	0.98	-	1.05	1.02	8.10 (8)
Trp	-	-	-	-	-	1.75 (2)
Lys	1.04	1.00	1.09	1.02	-	12.85 (13)
Arg	0.96	-	-	-	-	4.17 (4)
Summe	17	4	12	12	2	146

* Nach Oxidation bestimmt.

TABELLE 15. Pteropus poliocephalus, α -Kette

Peptid Pos.	Tp 1 1-7	Tp2 8-11	Tp 3 12-16	Tp4 17-31	Tp 5 32-40	Tp 6 41-56	Tp 7 57-60	Tp 8 61	Tp 9 62-90	Tp 8+9 61-90	Tp 10 91-92	Tp 11 93-99	Tp 12 100-127	Tp 13 128-139
Asp	1.04	1.04	1.20	1.02	-	1.02	-	-	4.87	4.68	-	1.99	3.56 (4)	-
Thr	0.95	-	-	-	1.88	0.93	-	-	0.92	0.95	-	-	1.83	1.82
Ser	1.79	0.91	-	-	0.96	1.76	-	-	1.89	1.87	-	-	1.99	2.65
Glu	-	-	-	3.24	-	1.05	-	-	-	-	-	-	-	-
Pro	-	-	-	-	1.02	1.10	-	-	1.12	1.31	-	1.06	2.13	-
Gly	-	-	-	3.91	-	1.02	0.96	-	2.94	2.98	-	-	-	-
Ala	-	-	2.12	2.01	-	0.99	0.95	-	4.92	4.74	-	-	2.89	1.03
Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.35 (1)	-
Val	0.94	0.94	-	1.95	-	0.92	-	-	1.88	1.85	-	1.94	1.75	2.04
Met	-	-	-	-	0.89	-	-	-	0.97	0.92	-	-	-	-
Ile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leu	1.22	-	-	1.12	1.19	1.12	-	-	5.28 (5)	5.33	1.08	-	7.40 (7)	2.42 (2)
Tyr	-	-	-	0.99	-	0.88	-	-	1.04	1.19	-	-	-	-
Phe	-	-	-	-	2.05	2.01	-	-	-	-	-	1.02	1.08	1.04
His	-	-	-	-	-	2.21	1.02	-	2.24	2.28	-	-	2.95	-
Trp	-	-	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys	1.06	1.12	1.09	-	1.01	0.99	1.07	1.00	1.03	1.89	-	1.00	1.03	1.00
Arg	-	-	-	0.94	-	-	-	-	-	-	0.92	-	-	-
Summe	7	4	5	15	9	16	4	1	29	30	2	7	28	12

Peptid Pos.	Tp 14 140-141	Globin
Asp	-	15.19 (16)
Thr	-	8.51 (9)
Ser	-	12.34 (13)
Glu	-	4.18 (4)
Pro	-	6.37 (6)
Gly	-	9.48 (9)
Ala	-	15.58 (15)
Cys	-	* 0.92 (1)
Val	-	12.37 (13)
Met	-	* 1.95 (2)
Ile	-	- (0)
Leu	-	18.95 (19)
Tyr	1.07	3.80 (4)
Phe	-	7.24 (7)
His	-	8.41 (8)
Trp	-	1.20 (1)
Lys	-	11.14 (11)
Arg	0.93	3.25 (3)
Summe	2	141

* Nach Oxidation bestimmt.

TABELLE 16. Pteropus poliocephalus, β-Kette

Peptid Pos.	Tp 1 1-8	Tp 2 9-17	Tp 3a 18-19	Tp 3b 20-30	Tp 3a+b 18-30	Tp 4 31-40	Tp 5 41-59	Tp 6 60-61	Tp 7 62-65	Tp 8 66	Tp 9 67-82	Tp 8+9 66-82	Tp 10a 83-87	Tp 11 96-104
Asp	-	-	-	0.97	0.91	-	2.94	-	-	-	2.91	2.82	-	1.85
Thr	-	1.05	-	-	-	0.83	-	-	-	-	-	-	0.98	-
Ser	0.86	-	-	-	-	-	2.73 (3)	-	-	-	1.67 (2)	1.66 (2)	-	-
Glu	2.20	-	-	2.10	1.95	0.87	-	-	-	-	2.12	2.09	-	1.06
Pro	-	-	-	-	-	0.73	1.97	-	-	-	-	-	-	0.81
Gly	1.08	2.20	-	2.97	2.73	-	2.10	-	1.00	-	1.04	1.09	1.01	-
Ala	-	2.18	-	1.03	0.97	-	2.16	-	0.97	-	-	-	1.00	-
Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Val	0.84	1.15	1.07	1.92	2.70	1.11 (2)	1.01	1.07	-	-	1.04	1.32 (1)	-	1.19
Met	-	-	-	-	-	-	0.91	-	-	-	-	-	-	-
Ile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leu	1.06	1.17	-	1.05	0.98	1.72	1.20	-	-	-	4.24	4.19	-	1.20
Tyr	-	-	-	-	-	0.75	-	-	-	-	-	-	-	-
Phe	-	-	-	-	-	-	2.93	-	-	-	0.97	0.91	1.01	0.90
His	0.93	-	-	-	-	-	-	-	1.00	-	1.01	1.04	-	0.99
Trp	-	(1)	-	-	-	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys	1.01	1.08	0.93	-	0.86	-	1.05	0.93	1.03	1.00	1.01	1.87	1.01	-
Arg	-	-	-	0.95	0.91	0.92	-	-	-	-	-	-	-	1.00
Summe	8	9	2	11	13	10	19	2	4	1	16	17	5	9

Peptid Pos.	Tp 10b+11 88-104	Tp 12a 105-116	Tp 12b 117-120	Tp 13 121-132	Tp 14 (I) 133-144	Tp 14 (II) 133-144	Tp 15 145-146	Globin
Asp	2.92	0.96	-	-	1.09	-	-	11.10 (11.5)
Thr	-	-	-	1.07	-	0.92	-	4.50 (4.5)
Ser	0.84	-	-	-	-	-	-	6.27 (7)
Glu	2.18	-	-	3.90	-	-	-	13.44 (13)
Pro	0.94	-	-	1.04	-	-	-	4.10 (5)
Gly	-	0.98	1.05	-	1.09	1.11	-	12.78 (14)
Ala	-	0.98	-	1.93	4.04	4.04	-	14.80 (14)
Cys	1.04	1.09	-	-	-	-	-	* 1.78 (2)
Val	0.98	-	-	1.04	2.38 (3)	2.34 (3)	-	17.00 (18)
Met	-	-	-	-	-	-	-	* 0.86 (1)
Ile	-	-	-	-	-	-	-	- (0)
Leu	3.19	4.16	-	-	1.23	1.29	-	18.60 (18)
Tyr	-	-	-	0.95	-	-	0.98	2.95 (3)
Phe	0.98	-	0.98	1.06	-	-	-	8.44 (8)
His	1.94	-	0.98	-	1.07	1.14	1.02	8.10 (8)
Trp	-	-	-	-	-	-	-	1.45 (2)
Lys	1.00	-	0.99	1.01	1.09	1.15	-	12.95 (13)
Arg	0.98	0.98	-	-	-	-	-	4.07 (4)
Summe	17	12	4	12	12	12	2	146

* Nach Oxidation bestimmt.

TABELLE 17. Megaderma lyra, α -Kette

Peptid Pos.	Tp 1 1-7	Tp2 8-11	Tp 3 12-16	Tp4 17-31	Tp 5 32-40	Tp 6 41-56	Tp 7 57-60	Tp 8 61	Tp 9 62-90	Tp 8+9 61-90	Tp 10 91-92	Tp 11 93-99	Tp 13 128-139	Tp 14 140-141
Asp	1.03	1.15	1.12	1.00	-	1.04	-	-	4.87	4.92	-	1.97	-	-
Thr	-	-	-	-	1.98	0.98	-	-	-	-	-	-	1.74	-
Ser	0.90	-	-	-	0.97	1.75	-	-	1.71	1.78	-	-	1.81	-
Glu	-	-	-	2.91	-	1.10	-	-	-	-	-	-	-	-
Pro	-	-	-	-	1.14	1.29	-	-	1.26	1.03	-	1.11	-	-
Gly	-	-	-	3.59 (4)	-	1.02	0.95	-	3.01	3.13	-	-	1.29	-
Ala	1.97	0.92	1.92	2.73	-	1.01	1.09	-	5.00	5.17	-	-	1.18	-
Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Val	1.01	1.03		1.00	-	0.98	-	-	2.99	2.98	-	1.92	1.74	-
Met	-	-	-	-	0.76	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leu	1.07	-	-	1.02	1.08	1.02	-	-	6.30 (6)	6.31	1.08	-	1.98	-
Tyr	-	-	-	0.87	-	0.93	-	-	0.80	0.83	-	-	-	1.05
Phe	-	-	1.09	-	1.99	1.85	-	-	-	-	-	0.95	1.18	-
His	-	-	-	-	-	2.03	1.03	-	2.12	2.11	-	-	-	-
Trp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys	1.03	0.89	1.12	-	1.08	0.99	0.93	1.00	0.96	1.75	-	1.05	0.91	-
Arg	-	-	-	0.87	-	-	-	-	-	-	0.92	-	-	0.95
Summe	7	4	5	15	9	16	4	1	29	30	2	7	12	2

Peptid Pos.	Prolyl-Peptid 95-141	Globin
Asp	3.61 (3)	14.19 (14)
Thr	3.68 (4)	7.11 (7)
Ser	3.87 (4)	10.34 (10)
Glu	-	6.18 (4)
Pro	1.79 (2)	5.38 (5)
Gly	2.29 (2)	10.78 (11)
Ala	6.50 (7)	20.88 (22)
Cys	-	* - (0)
Val	7.98 (8)	15.77 (16)
Met	-	* 0.91 (1)
Ile	-	- (0)
Leu	7.40 (7)	18.45 (18)
Tyr	0.55 (1)	3.60 (4)
Phe	2.87 (3)	7.64 (8)
His	2.18 (2)	7.32 (7)
Trp	-	- (0)
Lys	3.32 (3)	11.05 (11)
Arg	1.15 (1)	2.90 (3)
Summe	47	141

* Nach Oxidation bestimmt.

TABELLE 18. Megaderma lyra, β-Kette

Peptid Pos.	Tp 1 1-8	Tp 2 9-17	Tp 3 18-30	Tp 4 31-40	Tp 5 41-59	Tp 6 60-61	Tp 7 62-65	Tp 8 66	Tp 9a 67-78	Tp 9b 79-82	Tp 10a 83-87	Tp 10b 88-95	Tp 11 96-104
Asp	1.02	-	1.00	-	2.26	-	-	-	1.03	2.86	-	1.09	2.05
Thr	1.01	1.25	-	1.26	-	-	-	-	-	-	1.00	-	-
Ser		-	-	-	3.67 (4)	-	-	-	1.79 (2)	-	-	0.89	-
Glu	2.11	-	3.21	1.27	1.14	-	-	-	1.13	-	-	1.11	1.08
Pro	-	-	-	1.18	2.04	-	-	-	-	-	-	-	0.93
Gly	-	2.26	3.05	-	2.06	-	0.96	-	1.05	-	1.01	-	-
Ala	-	1.24	1.02	-	1.07	-	1.02	-	-	-	1.00	-	-
Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.70	-
Val	0.84	0.79	2.72	1.65 (2)	-	1.09	-	-	0.95	-	-	-	1.04
Met	-	-	-	-	0.65 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ile	-	0.79	-	-	1.00	-	-	-	-	-	-	-	-
Leu	1.05	1.24	1.03	2.46 (2)	1.09	-	-	-	2.08	2.15	-	1.88	1.04
Tyr	-	-	-	1.09	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phe	-	-	-	-	3.01	-	-	-	0.99	-	0.98	-	0.96
His	0.92	-	-	-	-	-	0.95	-	-	-	-	0.90	0.97
Trp	-	(1)	-	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys	1.05	1.26	-	-	1.02	1.91	1.08	1.00	1.03	0.99	1.01	0.95	-
Arg	-	-	0.98	1.18	-	-	-	-	-	-	-	-	0.92
Summe	8	9	13	10	19	2	4	1	10	6	5	8	9

Peptid Pos.	Tp 12b 117-120	Tp 13 121-132	Tp 14 133-144	Tp 15 145-146	Prolyl-Peptid 100-146	Globin
Asp	-	-	-	-	1.97 (1)	11.10 (11)
Thr	-	0.98	1.10	-	1.26 (2)	5.50 (6)
Ser	-	-	-	-	-	7.27 (7)
Glu	-	4.14	-	-	5.51 (5)	13.45 (14)
Pro	-	0.95	-	-	1.84 (2)	5.10 (5)
Gly	1.18	-	1.06	-	3.53 (3)	12.78 (13)
Ala	-	1.91	4.26	-	6.39 (7)	12.60 (12)
Cys	-	-	-	-	0.58 (1)	* 1.78 (2)
Val	-	0.99	2.30 (3)	-	5.46 (5)	14.30 (15)
Met	-	-	-	-	-	* 0.89 (1)
Ile	-	-	-	-	0.93 (1)	2.78 (3)
Leu	-	-	1.13	-	6.65 (6)	19.20 (19)
Tyr	-	1.01	-	0.98	2.61 (3)	2.87 (4)
Phe	0.87	1.02	-	-	3.05 (3)	8.34 (8)
His	0.95	-	1.08	1.02	3.38 (3)	7.10 (7)
Trp	-	-	-	-	-	1.85 (2)
Lys	1.01	1.00	1.08	-	3.42 (3)	12.86 (13)
Arg	-	-	-	-	1.79 (2)	4.17 (4)
Summe	4	12	12	2	47	146

* Nach Oxidation bestimmt.

TABELLE 19. Rhinopoma hardwickei, α -Kette

Peptid Pos.	Tp 1 1-7	Tp2 8-11	Tp 3 12-16	Tp4 17-31	Tp 5 32-40	Tp 6 41-56	Tp 7 57-60	Tp 8 61	Tp 9 62-90	Tp 8+9 61-90	Tp 10 91-92	Tp 11 93-99	Tp 12 100-127	Tp 13 128-139
Asp	1.19	0.98	1.25	1.08	-	1.27	-	-	4.87	4.92	-	1.92	1.30	-
Thr	-	-	-	-	1.88	0.82	-	-	1.11	1.21	-	-	1.92	1.66 (2)
Ser	1.04	-	-	-	0.96	1.16	-	-	1.71	1.88	-	-	2.87	2.51 (3)
Glu	-	-	-	2.22	-	0.98	-	-	-	-	-	-	1.08	-
Pro	1.28	-	-	-	1.21	1.04	-	-	1.16	1.02	-	1.10	2.05	-
Gly	-	-	-	2.99	-	1.24	1.85	-	3.00	3.23	-	-	-	-
Ala	1.15	0.99	2.36	3.84	-	1.89	-	-	5.19	5.24	-	-	4.80 (4)	1.20
Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.92	-
Val	1.13	0.99	-	1.18	-	1.05	-	-	2.22	2.18	-	1.99	2.16	1.98
Met	-	-	-	-	0.73	-	-	-	0.68	0.77	-	-	-	-
Ile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leu	1.19	-	-	1.13	1.01	1.13	-	-	5.40 (5)	5.31	1.01	-	6.57 (7)	2.09
Tyr	-	-	-	0.75	-	0.59	-	-	0.90	0.89	-	-	-	-
Phe	-	-	-	-	1.97	1.82	-	-	-	-	-	0.97	1.23	1.40 (1)
His	-	-	-	1.03	-	1.97	1.03	-	2.17	2.10	-	-	3.44 (3)	-
Trp	-	-	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys	1.14	1.04	1.29	-	1.08	1.06	1.12	1.00	0.99	1.65	-	1.02	1.16	1.09
Arg	-	-	-	0.78	-	-	-	-	-	-	0.99	-	-	-
Summe	7	4	5	15	9	16	4	1	29	30	2	7	28	12

Peptid Pos.	Tp 14 140-141	Globin
Asp	-	12.68 (13)
Thr	-	6.78 (8)
Ser	-	10.56 (11)
Glu	-	3.67 (4)
Pro	-	6.43 (7)
Gly	-	8.56 (9)
Ala	-	18.65 (20)
Cys	-	* 0.90 (1)
Val	-	11.38 (12)
Met	-	* 0.94 (2)
Ile	-	- (0)
Leu	-	16.54 (19)
Tyr	1.10	2.98 (4)
Phe	-	6.33 (7)
His	-	9.55 (9)
Trp	-	0.88 (1)
Lys	-	10.75 (11)
Arg	0.90	2.44 (3)
Summe	2	141

* Nach Oxidation bestimmt.

TABELLE 20. Rhinopoma hardwickei, β-Kette

Peptid Pos.	Tp 1 1-8	Tp 2 9-17	Tp 3 18-30	Tp 4 31-40	Tp 5 41-59	Tp 6 60-61	Tp 7 62-65	Tp 8 66	Tp 9 67-82	Tp 10a 83-87	Tp 11 96-104	Tp 10b+11 88-104	Tp 12a 105-116
Asp	-	-	1.97	-	3.12	-	-	-	3.75 (4)	-	2.15	3.00	1.02
Thr	1.01	1.21	-	1.21	-	-	-	-	-	1.03	-	-	-
Ser	-	1.25	-	-	3.21 (4)	-	-	-	1.69 (2)	-	-	0.89	-
Glu	2.13	-	2.11	1.23	-	-	-	-	2.16	-	1.07	2.11	-
Pro	-	-	-	1.15	1.97	-	-	-	-	-	0.94	0.86	-
Gly	1.01	2.16	3.03	-	2.24	-	0.97	-	1.07	1.01	-	-	1.08
Ala	-	1.24	1.08	-	1.23	-	1.02	-	-	1.01	-	-	1.07
Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.39 (1)	1.10
Val	0.87	0.89	2.83	1.55 (2)	1.25	1.09	-	-	1.07	-	1.04	0.99	2.88
Met	-	-	-	-	0.51 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leu	1.07	1.13	1.01	2.17 (2)	1.58 (1)	-	-	-	4.10	-	1.04	2.98	3.97
Tyr	-	-	-	1.11	-	-	-	-	-	0.95	-	-	-
Phe	-	-	-	-	2.69 (3)	-	-	-	1.01	-	0.92	0.95	-
His	0.93	-	-	-	-	-	0.94	-	-	-	0.98	1.91	-
Trp	-	(1)	-	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys	0.99	1.11	-	-	1.20	1.01	1.08	1.00	1.14	0.99	-	0.98	-
Arg	-	-	0.97	1.09	-	-	-	-	-	-	0.92	0.95	0.88
Summe	8	9	13	10	19	2	4	1	16	5	9	17	12

Peptid Pos.	Tp 12b 117-120	Tp 13 121-132	Tp 14 133-144	Tp 15 145-146	Globin
Asp	-	-	-	-	12.10 (13)
Thr	-	1.08	1.00	-	5.50 (6)
Ser	-	-	-	-	7.27 (8)
Glu	-	4.34 (4)	-	-	13.45 (13)
Pro	-	0.72	-	-	5.40 (5)
Gly	1.03	-	1.11	-	13.78 (14)
Ala	-	1.94	4.00	-	12.60 (12)
Cys	-	-	-	-	* 1.88 (2)
Val	-	1.05	2.37 (3)	-	17.30 (18)
Met	-	-	-	-	* 0.99 (1)
Ile	-	-	-	-	- (0)
Leu	-	-	1.35	-	18.20 (18)
Tyr	-	0.90	-	0.97	2.57 (4)
Phe	0.93	0.97	-	-	8.36 (7)
His	1.05	-	1.00	1.03	7.10 (7)
Trp	-	-	-	-	1.65 (2)
Lys	0.98	1.00	1.07	-	12.16 (12)
Arg	-	-	-	-	4.15 (4)
Summe	4	12	12	2	146

* Nach Oxidation bestimmt.

3.1.4.8. Sequenzen der Säuger-Hämoglobine

TABELLE 21.

Primärstruktur der α - und β-Ketten des Alpenmurmeltier-Hämoglobins (Marmota marmota marmota). Die Sequenzen sind homolog verglichen mit den entsprechenden Ketten von Humanhämoglobin, wobei hier nur die Austausche angegeben sind. Die Helices sind eingezeichnet.

```
        NA        A_____________________________________________________ AB  B_______________

Hu α                                    10                  Gly    Val    Ala 20  Ala-Gly-Glu
Mm α  Val-   -Leu-Ser-Pro-Ala-Asp-Lys-Thr-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-Glu-Lys-Ile-Gly-Gly-His-Gly-Ala-Ala-Tyr-
Mm β  Val-His-Leu-Ser-Asp-Gly-Glu-Lys-Asn-Ala-Ile-Ser-Thr-Ala-Trp-Gly-Lys-Val-       -Asn-Ala-Ala-Asp-Ile-
Hu β              Thr-Pro-Glu        Ser 10  Val-Thr-Ala-Leu                          19  Val-Asp-Glu-Val

        NA        A_____________________________________________________       B_______________


        ____________________________________ C_____________________ CD

Hu α                    30                                  40
Mm α  Gly-Ala-Glu-Ala-Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-Thr-Lys-Thr-Tyr-Phe-Pro-His-Phe-   -Asp-Leu-
Mm β  Gly-Ala-Glu-Ala-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-Asp-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-
Hu β      Gly                 30                                      40          Glu

        ____________________________________ C_____________________ CD


                                      E_____________________________________________________

Hu α      50                                  Val-Lys             60                          Thr
Mm α  Ser-His-                    -Gly-Ser-Ala-Gln-Ile-Gln-Gly-His-Gly-Lys-Lys-Val-Ala-Asp-Ala-Leu-Ala-Asn-
Mm β  Ser-Ser-Ala-Ser-Ala-Val-Met-Gly-Asn-Ala-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Ile-Asp-Ser-Phe-Ser-Asn-
Hu β  49  Thr-Pro-Asp                     Pro     60                                  Leu-Gly-Ala 71      Asp

          D_________________________ E_____________________________________________________


        __________ EF                         F_________________________________ FG

Hu α      Val 71                  Met     Asn     80                                      90
Mm α  Ala-Ala-Ala-His-Val-Asp-Asp-Leu-Pro-Ser-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-Asp-Leu-His-Ala-His-Lys-Leu-Arg-Val-
Mm β  Gly-Leu-Lys-His-Leu-Asp-Asn-Leu-Lys-Gly-Thr-Phe-Ala-Ser-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-
Hu β          Ala             80                          Thr         90

        __________ EF                         F_________________________________ FG


        G_____________________________________________________________________ GH                H___

Hu α                        100                                     110         Leu
Mm α  Asp-Pro-Val-Asn-Phe-Lys-Leu-Leu-Ser-His-Cys-Leu-Leu-Val-Thr-Leu-Ala-Ala-His-His-Pro-Ala-Glu-Phe-Thr-
Mm β  Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Lys-Leu-Leu-Gly-Asn-Met-Ile-Val-Ile-Val-Met-Ala-His-His-Leu-Gly-Lys-Asp-Phe-Thr-
Hu β      100             Arg             108 Val-Leu     Cys     Leu             Phe     120 Glu

        G_____________________________________________________________________ GH                H___


        ____________________________________________________________________________ HC

Hu α  120                                     130                                     140
Mm α  Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Ser-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg
Mm β  Pro-Glu-Ala-Gln-Ala-Ala-Phe-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Asn-Ala-Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His
Hu β      Pro-Val         129 Tyr                                     140

        ____________________________________________________________________________ HC
```

TABELLE 22.

Primärstruktur der α - und β-Ketten des Kurznasen-Flughund-Hämoglobins (Cynopterus sphinx). Die Sequenzen sind homolog verglichen mit den entsprechenden Ketten von Humanhämoglobin, wobei hier nur die Austausche angegeben sind. Die Helices sind eingezeichnet.

```
        NA          A_____________________________________________________ AB  B_________________

Hu α                                        10                  Gly            Ala-His 21
Cs α    Val-   -Leu-Ser-Pro-Ala-Asp-Lys-Thr-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-Asp-Lys-Val-Gly-Gly-Asn-Ala-Gly-Glu-Tyr-
Cs β    Val-His-Leu-Ser-Gly-Glu-Glu-Lys-Ser-Ala-Val-Thr-Ser-Leu-Trp-Gly-Lys-Val-       -Lys-Val-Asp-Glu-Val-
Hu β                Thr-Pro                 10          Ala                              Asn 20

        NA          A_____________________________________________________        B_________________

        ___________________________________________ C_____________________ CD

Hu α                        30                                  40
Cs α    Gly-Ala-Glu-Ala-Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-Thr-Lys-Thr-Tyr-Phe-Pro-His-Phe-   -Asp-Leu-
Cs β    Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-Asp-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-
Hu β                            30                                  40          Glu

        ___________________________________________ C_____________________ CD

                                        E_____________________________________________________________

Hu α    Ser 50                          Ala                         60          Ala
Cs α    Ala-His-                    -Gly-Ser-Pro-Gln-Val-Lys-Gly-His-Gly-Lys-Lys-Val-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr-Asn-
Cs β    Ser-Ser-Ala-Ser-Ala-Val-Met-Gly-Asn-Ala-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Asp-Ser-Phe-Ser-Glu-
Hu β    49  Thr-Pro-Asp                   Pro     60                                  Gly-Ala 71      Asp

            D_____________________ E_____________________________________________________________

        ___________ EF                          F_____________________________________ FG

Hu α        70  Ala     Val         Met     Asn     80                                  His 90
Cs α    Ala-Val-Ser-His-Ile-Asp-Asp-Leu-Pro-Gly-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-Asp-Leu-His-Ala-Tyr-Lys-Leu-Arg-Val-
Cs β    Gly-Leu-Gln-His-Leu-Asp-Ser-Leu-Lys-Gly-Thr-Phe-Ala-Lys-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-
Hu β            Ala             Asn 81                      Thr         90

        ___________ EF                          F_____________________________________ FG

        G_____________________________________________________________________ GH                  H___

Hu α                            100                                 110 Ala             Ala-Glu
Cs α    Asp-Pro-Val-Asn-Phe-Lys-Leu-Leu-Ser-His-Cys-Leu-Leu-Val-Thr-Leu-Ala-Asn-His-Leu-Pro-Ser-Asp-Phe-Thr-
Cs β    Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Arg-Leu-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Val-Val-Val-Leu-Ala-Arg-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-
Hu β        100                                 110     Cys             His             120

        G_____________________________________________________________________ GH                  H___

        ___________________________________ _____________________________________ HC

Hu α        120                                 130                                 140
Cs α    Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Ser-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg
Cs β    Pro-Gln-Leu-Gln-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Thr-Ala-Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His
Hu β        Pro-Val             130                                 Asn 140

        ___________________________________________________________________________________ HC
```

TABELLE 23.

Primärstruktur der α - und β-Ketten des Graukopf-Flughund-Hämoglobins (Pteropus poliocephalus). Die Sequenzen sind homolog verglichen mit den entsprechenden Ketten von Humanhämoglobin, wobei hier nur die Austausche angegeben sind. Die Helices sind eingezeichnet.

```
      NA        A_____________________________________________________ AB  B_______________

Hu α                Pro-Ala        Thr    10                Gly          Ala-His-Ala 22
Pp α  Val-   -Leu-Ser-Ser-Thr-Asp-Lys-Ser-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-Asp-Lys-Val-Gly-Gly-Asn-Val-Gly-Glu-Tyr-
Pp β  Val-His-Leu-Ser-Gly-Glu-Glu-Lys-Ala-Ala-Val-Thr-Gly-Leu-Trp-Gly-Lys-Val-       -Lys-Val-Asp-Glu-Val-
Hu β              Thr-Pro            Ser 10         Ala                              Asn 20

      NA        A_____________________________________________________       B_______________


                ____________________________________ C_____________________ CD

Hu α                        30                                  40
Pp α  Gly-Ala-Glu-Ala-Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-Thr-Lys-Thr-Tyr-Phe-Pro-His-Phe-   -Asp-Leu-
Pp β  Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-Asp-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-
Hu β                          30                                  40          Glu

                ____________________________________ C_____________________ CD


                                   E_____________________________________________________

Hu α  Ser 50                          Ala          Gly        60         Ala
Pp α  Ala-His-                 -Gly-Ser-Ser-Gln-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr-Asn-
Pp β  Ser-Ser-Ala-Pro-Ala-Val-Met-Gly-Asn-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Asp-Ser-Phe-Ser-Glu-
Hu β  49  Thr-Pro-Asp                          60                                  Gly-Ala 71      Asp

          D_________________________ E_____________________________________________________


                __________ EF                          F_________________________________ FG

Hu α      70  Ala     Val         Met     Asn     80                                  His 90
Pp α  Ala-Val-Gly-His-Met-Asp-Asp-Leu-Pro-Gly-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-Asp-Leu-His-Ala-Tyr-Lys-Leu-Arg-Val-
Pp β  Gly-Leu-Gln-His-Leu-Asp-Asn-Leu-Lys-Gly-Thr-Phe-Ala-Lys-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-
Hu β          Ala            80                          Thr        90

                __________ EF                          F_________________________________ FG


      G_____________________________________________________________ GH                 H___

Hu α                        100                                 110 Ala            Ala-Glu
Pp α  Asp-Pro-Val-Asn-Phe-Lys-Leu-Leu-Ser-His-Cys-Leu-Leu-Val-Thr-Leu-Ala-Asn-His-Leu-Pro-Asn-Asp-Phe-Thr-
Pp β  Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Arg-Leu-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Val-Cys-Val-Leu-Ala-Arg-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-
Hu β      100                                 110                     His            120

      G_____________________________________________________________ GH                 H___


                ____________________________________________________________________ HC

Hu α      120                                 130                                 140
Pp α  Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Ser-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg
Pp β  Pro-Gln-Val-Gln-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Thr-Ala-Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His
         Pro                                                   Asn
Hu β                          130                                Asn 140

                ____________________________________________________________________ HC
```

TABELLE 24.

Primärstruktur der α - und β-Ketten der Lyra-Fledermaus-Hämoglobins (Megaderma lyra). Die Sequenzen sind homolog verglichen mit den entsprechenden Ketten von Humanhämoglobin, wobei hier nur die Austausche angegeben sind. Die Helices sind eingezeichnet.

```
      NA          A_____________________________________________________ AB  B_____________

Hu α                  Pro              Thr     10              Trp-Gly              Ala-His 21      Glu
Ml α  Val-   -Leu-Ser-Ala-Ala-Asp-Lys-Ala-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Phe-Asp-Lys-Val-Gly-Gly-Gln-Ala-Gly-Asp-Tyr-
Ml β  Val-His-Leu-Thr-Asn-Glu-Glu-Lys-Thr-Ala-Val-Ile-Gly-Leu-Trp-Gly-Lys-Val-        -Asn-Val-Glu-Glu-Val-
Hu β                  Pro              Ser 10      Thr-Ala                                  20  Asp

      NA          A_____________________________________________________        B_____________


      ____________________________________ C____________________ CD

Hu α                      30                                  40
Ml α  Gly-Ala-Glu-Ala-Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-Thr-Lys-Thr-Tyr-Phe-Pro-His-Phe-   -Asp-Leu-
Ml β  Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-Glu-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-
Hu β                          30                                  40

      ____________________________________ C____________________ CD


                                    E_____________________________________________________

Hu α     50                                          Gly         60          Ala             Thr
Ml α  Ser-His-                    -Gly-Ser-Ala-Gln-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Gly-Asp-Ala-Leu-Val-Asn-
Ml β  Ser-Ser-Pro-Ser-Ala-Ile-Met-Gly-Asn-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Asn-Ser-Phe-Ser-Glu-
Hu β  49  Thr     Asp     Val                    60                                  Gly-Ala 71      Asp

         D_____________________ E_____________________________________________________


      __________ EF                          F_____________________________ FG

Hu α     70  Ala     Val         Met     Asn     80                                  His 90
Ml α  Ala-Val-Gly-His-Leu-Asp-Asp-Leu-Pro-Gly-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-Asp-Leu-His-Ala-Tyr-Lys-Leu-Arg-Val-
Ml β  Gly-Leu-Lys-Asn-Leu-Asp-Asn-Leu-Lys-Gly-Thr-Phe-Ala-Lys-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-
Hu β          Ala-His         80                          Thr         90

      __________ EF                          F_____________________________ FG


      G_____________________________________________________________ GH                H___

Hu α                        100 Leu     His-Cys                     110 Ala     Leu-Pro     Glu
Ml α  Asp-Pro-Val-Asn-Phe-Lys-Leu-Ala-Ser-Asn-Val-Leu-Leu-Val-Thr-Leu-Ala-Val-His-Val-Ala-Ala-Gly-Phe-Thr-
Ml β  Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Arg-Leu-Leu-Gly-Tyr-Ile-Leu-Leu-Cys-Val-Leu-Ala-Arg-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-
Hu β     100                              Asn-Val 110 Val                 His             120

      G_____________________________________________________________ GH                H___


      ____________________________________________________________________ HC

Hu α     120                                     130         Ser                         140
Ml α  Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Gly-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg
Ml β  Pro-Gln-Val-Gln-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Thr-Ala-Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His
Hu β     Pro                 130                                 Asn 140

      ____________________________________________________________________ HC
```

TABELLE 25.

Primärstruktur der α - und β-Ketten des Hardwicke-Klappnase-Hämoglobins (Rhinopoma hardwickei). Die Sequenzen sind homolog verglichen mit den entsprechenden Ketten von Humanhämoglobin, wobei hier nur die Austausche angegeben sind. Die Helices sind eingezeichnet.

```
      NA         A_____________________________________________________ AB  B_____________

Hu α                                Thr     10                  Gly                 20          Glu
Rh α  Val-   -Leu-Ser-Pro-Ala-Asp-Lys-Ala-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-Asp-Lys-Val-Gly-Ala-His-Ala-Gly-Asp-Tyr-
Rh β  Val-His-Leu-Thr-Gly-Glu-Glu-Lys-Ser-Ala-Val-Thr-Gly-Leu-Trp-Gly-Lys-Val-       -Asn-Val-Asp-Glu-Val-
Hu β                  Pro                 10          Ala                                 20

      NA         A_____________________________________________________        B_____________


      ____________________________________ C____________________ CD

Hu α                      30                                  40
Rh α  Gly-Ala-Glu-Ala-Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-Thr-Lys-Thr-Tyr-Phe-Pro-His-Phe-   -Asp-Leu-
Rh β  Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-Asp-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-
Hu β                          30                                  40          Glu

      ____________________________________ C____________________ CD


                                  E_____________________________________________________

Hu α  Ser 50                                                  60          Ala
Rh α  Ala-His-                  -Gly-Ser-Ala-Gln-Val-Lys-Gly-His-Gly-Lys-Lys-Val-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr-Asn-
Rh β  Ser-Ser-Pro-Ser-Ala-Val-Met-Gly-Asn-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Asn-Ser-Phe-Ser-Glu-
Hu β  49  Thr     Asp                         60                                  Gly-Ala 71      Asp

          D_____________________ E_____________________________________________________


      __________ EF                         F_____________________________ FG

Hu α      70  Ala     Val         Met     Asn     80                                  His 90
Rh α  Ala-Val-Gly-His-Met-Asp-Asp-Leu-Pro-Gly-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-Asp-Leu-His-Ala-Tyr-Lys-Leu-Arg-Val-
Rh β  Gly-Leu-Gln-Asn-Leu-Asp-Asn-Leu-Lys-Gly-Thr-Tyr-Ala-Lys-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-
Hu β          Ala-His         80                  Phe     Thr         90

      __________ EF                         F_____________________________ FG


      G_____________________________________________________________ GH                H___

Hu α                      100                                 110                 Ala
Rh α  Asp-Pro-Val-Asn-Phe-Lys-Leu-Leu-Ser-His-Cys-Leu-Leu-Val-Thr-Leu-Ala-Ala-His-Leu-Pro-Ser-Glu-Phe-Thr-
Rh β  Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Arg-Leu-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Val-Cys-Val-Leu-Ala-Arg-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-
Hu β      100                                 110                 His                 120

      G_____________________________________________________________ GH                H___


      ____________________________________________________________________ HC

Hu α      120                                 130                                 140
Rh α  Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Ser-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg
Rh β  Pro-Glu-Val-Glu-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Thr-Ala-Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His
Hu β      Pro     Gln         130                                 Asn 140

      ____________________________________________________________________ HC
```

4. DISKUSSION

4.1. Wertung der verwendeten Methoden

4.1.1. Kettentrennung

Die Kettentrennung erfolgte durch HPLC an LiChrosorb RP2 (5µm) in 0.1M Ammoniumacetat/5% Ameisensäure mit einem Acetonitril Gradienten. Diese Methode hat gegenüber der häufig verwendeten Ionenaustauscher-Chromatographie unter dissoziierenden Bedingungen folgende Vorteile:

a) Da die Hämabspaltung wegen der Verwendung eines sauren Puffers während der Trennung erfolgt, ist die Gewinnung des Globins vor der Trennung überflüssig.

b) Die Kapazität einer präparativen HPLC-Säule ermöglicht es, pro Lauf bis zu 15 mg Hämoglobin zu trennen. Bei den für die moderne Sequenzierung benötigten kleinen Mengen ist der Zeitaufwand wesentlich geringer.

c) Bei der Kettentrennung mittels HPLC ist es nicht erforderlich, mit harnstoff- oder guanidinhaltigen Lösungen zu arbeiten, so daß die Entsalzung der gewonnenen Ketten entfällt. Statt dessen ist eine mehrstündige Lyophilisation ausreichend, um die für die Trennung verwendeten Salze zu entfernen.

d) Die Ausbeute lag bei diesen Trennungen zwischen 70 und 80% und damit höher als bei der Ionenaustauscher-Chromatographie.

4.1.2. Isolierung der Peptide

Die Sequenzierung der Ketten wurde fast ausschließlich an

den tryptischen Peptiden durchgeführt. Die tryptische Spaltung erfolgte bei pH 11.0 beginnend bei Raumtemperatur. Das hat den Vorteil, daß eine vorausgehende Denaturierung unnötig ist und keine chymotryptischen Spaltprodukte entstehen. Die Ketten wurden entweder nativ oder oxidiert gespalten. Die Trennung der Peptide erfolgte in einigen Fällen direkt mittels HPLC oder nach Gelfiltration an Sephadex G-25. Die Vortrennung erleichtert die Isolierung der Peptide erheblich, da in jedem Gipfel nur wenige Peptide enthalten sind. Bei der Spaltung der nativen Ketten verursacht die Isolierung der Core-Peptide häufig Schwierigkeiten, da diese sehr hydrophob sind und zur Aggregation neigen, die oft auf die Entstehung von Disulfidbrücken zurückzuführen ist. Diese Probleme treten nicht auf, wenn die Ketten vor der Spaltung oxidiert werden. Durch die Oxidation wird auch die Löslichkeit der Ketten (Überführung von Cystein in Cysteinsäure) erhöht. Demzufolge ist das Protein für Trypsin leichter angreifbar und die Hydrolyse der sonst schlecht zugänglichen Bindungen wird erleichtert. Entsprechend höher ist die Löslichkeit der Cystein-haltigen Peptide, was ihre Isolierung erleichtert. Das ist dadurch zu erklären, daß die Aggregationsneigung praktisch eliminiert und die Eluierbarkeit von den HPLC-Säulen verbessert ist. Diesen Vorteilen steht als Nachteil die geringe Ausbeute der tryptophanhaltigen Peptide gegenüber. Die direkte Trennung der Peptide mittels HPLC liefert zwar die meisten Peptide in reiner Form, in einzelnen Fällen ist es jedoch notwendig, die Fraktionen unter anderen Bedingungen zu rechromatographieren. Das kann zu erheblichen Ausbeuteverlusten führen und bei Verwendung

von sauren Elutionssystemen Peptide mit N-terminalem Glutamin durch die Umwandlung in Pyroglutaminsäure unsequenzierbar machen. Wenn die Isolierung der Core-Peptide nach der tryptischen Spaltung nicht möglich ist, kann dieser Teil der Sequenz durch die saure Hydrolyse der Asp-Pro-Bindungen in den Positionen α94/95 und β99/100 und die Isolierung der entstehenden Prolylpeptide ermittelt werden. Die Methode ist nur bedingt spezifisch, da bei Vorliegen einer Asn-Pro Bindung in Position β57/58 durch die drastischen Spaltungsbedingungen eine Desamidierung des Asparagin erfolgen kann, was zu einer neuen Spaltstelle führt. Außerdem wurden einige unspezifische Spaltungen beobachtet (*Cynopterus sphinx* β49/50 Ser-Ser und β69/70 Asp-Ser). Gewöhnlich wird die Trennung mittels Gelfiltration an Sephadex G-50 durchgeführt, da neben der ungespaltenen Kette nur zwei Bruchstücke sehr unterschiedlicher Größe zu erwarten sind. Bei Vorliegen von unspezifischen Spaltungen versagt dieses Verfahren. Eine Trennung mittels HPLC ist in befriedigenden Ausbeuten nicht möglich. Sie kann nur durch Ionenaustauscher-Chromatographie erfolgen, erfordert dann aber erheblich größere Mengen. Sowohl nach der Gelfiltration als auch nach der Ionenaustauscher-Chromatographie ist eine Entsalzung erforderlich, da diese in Gegenwart von Harnstoff durchgeführt werden müssen. Dabei kann es wegen der schlechten Löslichkeit der Peptide zu großen Ausbeuteverlusten kommen. Bei einem Vergleich der während der Sequenzierung der 10 Globinketten verwendeten Methoden erweist sich die Spaltung der oxidierten Ketten mit anschließender Vortrennung durch Gelfiltration und Isolierung der Peptide mittels HPLC als die beste.

4.2. Struktur und Funktion

Für die Stabilität der Struktur des Hämoglobins spielen die Bindungsstellen zwischen den α- und β-Ketten eine wichtige Rolle[24,25]. Beim Übergang von der Deoxyform (T-Struktur) zur Oxyform (R-Struktur) bleiben viele davon unverändert, bei einigen ändert sich jedoch durch eine Verschiebung der Untereinheiten gegeneinander der Bindungspartner. Die α1/β2-Bindungsstellen sind von diesem Übergang stärker betroffen als die α1/β1-Bindungsstellen. Die α1/β2-Bindungsstellen zeigen aus diesem Grund eine niedrigere Austauschrate als die α1/β1-Bindungsstellen. Die folgende Tabelle zeigt die von Substitutionen betroffenen Bindungsstellen im Vergleich zu Human- Deoxyhämoglobin bei den Vertretern der Mega- und Microchiroptera und dem Alpenmurmeltier.

Tier	Position	Austausch	Bindungsstelle
Mm	β43 CD2	Glu → Asp	α1/β2
	β70 E14	Ala → Ser	Häm
	β112 G14	Cys → Ile	α1/β1
	β125 H3	Pro → Glu	α1/β1
Cs	α111 G18	Ala → Asn	α1/β1
	β43 CD2	Glu → Asp	α1/β2
	β70 E14	Ala → Ser	Häm
	β112 G14	Cys → Ser	α1/β1
	β116 G18	His → Arg	α1/β1
	β125 H3	Pro → Gln	α1/β1
Pp	α111 G18	Ala → Asn	α1/β1
	β43 CD2	Glu → Asp	α1/β2
	β70 E14	Ala → Ser	Häm
	β116 G18	His → Arg	α1/β1
	β125 H3	Pro → Gln	α1/β1
Ml	α103 G10	His → Asn	α1/β1
	α111 G18	Ala → Val	α1/β1
	α114 GH2	Pro → Ala	α1/β1
	β70 E14	Ala → Ser	Häm
	β108 G10	Asn → Tyr	α1/β1
	β116 G18	His → Arg	α1/β1
	β125 H3	Pro → Gln	α1/β1
Rh	β43 CD2	Glu → Asp	α1/β2
	β70 E14	Ala → Ser	Häm
	β116 G18	His → Arg	α1/β1
	β125 H3	Pro → Glu	α1/β1
	β127 H5	Gln → Glu	α1/β1

Eine vergleichende Untersuchung über die Häufigkeit dieser Austausche bei anderen Säugerhämoglobinen[2] zeigte, daß sie relativ oft vorkommen und daher ein größerer Einfluß auf die Eigenschaften des Moleküls nicht zu erwarten ist. Entsprechend ihrer geringeren Bedeutung sind die α1/β1-Bindungsstellen viel variabler. Bei der Fledermaus *Megaderma lyra* sind in zwei Fällen beide Kontaktpartner ausgetauscht, nämlich α103 G10 His → Asn und β108 G10 Asn → Tyr, sowie α114 GH2 Pro → Ala und β116 G18 His → Arg. Um eine Aussage über den möglichen Einfluß dieser Substitutionen auf die Eigenschaften des Moleküls zu ermöglichen, wurde

das dreidimensionale Modell des Humandeoxyhämoglobins[26] verwendet. Die erwähnten Bindungsstellen konnten an einem Evans & Sutherland PS 330 Molecular Graphics Display mit Hilfe des Programms FRODO[27] betrachtet werden. Im ersten Fall (Abb. 15) findet die Wechselwirkung zwischen dem ε-Stickstoff des Histidins und dem Sauerstoff der C=O Gruppe der Peptidbindung von Asparagin statt (Humanhämoglobin). Da die Seitenkette von Asn um 0.09 nm kürzer ist als die von His, wird durch den Austausch His → Asn der Abstand von 0.35 auf 0.44 nm erhöht, was die Bildung einer Salzbrücke unmöglich macht (Lyra-Hämoglobin, Abb. 16). Diese Substitution könnte also die Deoxy-Form des Hämoglobins stabilisieren und eine Grundlage für eine Erhöhung der Sauerstoffaffinität darstellen. In anderen Hämoglobinen, z.B. bei Vögeln[2], ist das His α103 oft durch Gln ersetzt, die Wechselwirkung wird aber nicht gestört, da die Seitenkette von Gln um 0.05 nm länger ist als die von His.

Im zweiten Fall (Abb. 17) findet man im Humanhämoglobin eine Salzbrücke wieder zwischen dem ε-Stickstoff von His β116 und der C=O Gruppe der Peptidbindung von Pro α114. Die Substitution von His durch Arg hat hier keinen Einfluß, da die lange, positiv geladene Seitenkette des Arginins die Bildung einer Salzbrücke ermöglicht (Lyra-Hämoglobin, Abb. 18).

Am Lyra-Hämoglobin wurde auch ein anderer interessanter Aminosäureaustausch gefunden, nämlich α14 A12 Trp → Phe. Das Trp in Position 14 der α-Kette ist allgemein invariant bei Säuger-Hämoglobinen und nur in fünf Fällen ausgetauscht[2], und zwar immer gegen Phe (Lama[28], Alpaka[29], Vikunja[29],

Dromedar[30], Trampeltier[31]). Diese Substitution hat keinen Einfluß auf die Eigenschaften des Moleküls, da das Trp keine große Bedeutung für die Funktion hat und Phe generell Trp ersetzen kann. Ein geladener Austausch kann allerdings in dieser Position schon zu einer Destabilisierung führen wie im Hb Evanston[32,33], wo das Trp durch Arg ersetzt ist.

Die Verwendung der Struktur des Humanhämoglobins zur Diskussion dieser Austausche ist, trotz der relativ hohen Anzahl der Substitutionen, zulässig, da der Anteil der ausgetauschten Reste weit weniger als 55% der gesamten Kettenlänge beträgt. Dieser Prozentsatz gilt für Proteine, die zu derselben Funktionsklasse gehören, wie eine Studie von Lesk[34,35] ergab.

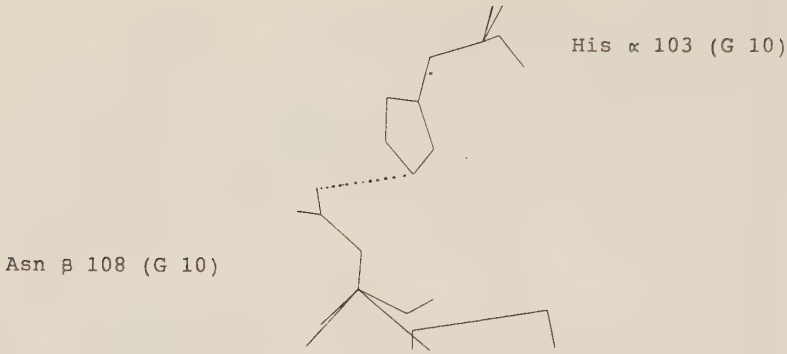


Abb. 15: α1/β1-Kontakt, Humanhämoglobin.

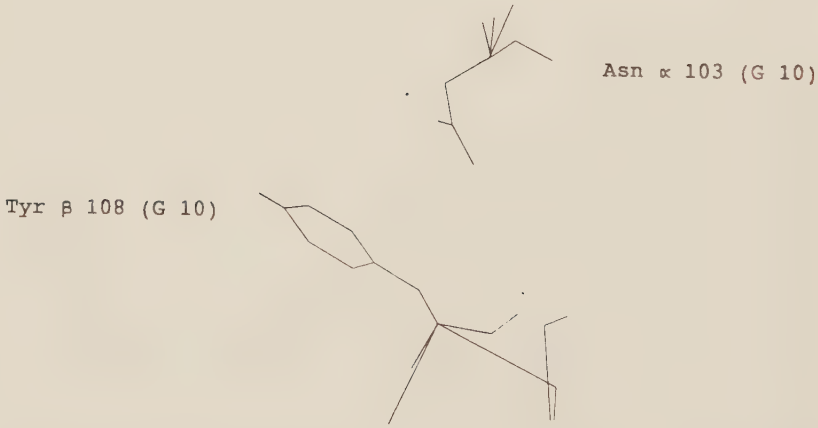


Abb. 16: α1/β1-Kontakt, Lyra-Hämoglobin.

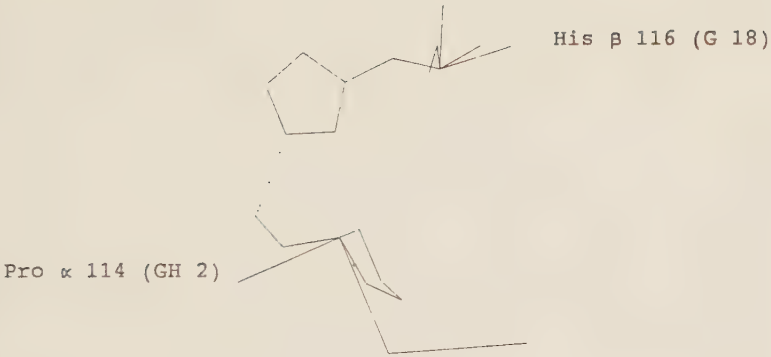


Abb. 17: α1/β1-Kontakt, Humanhämoglobin.

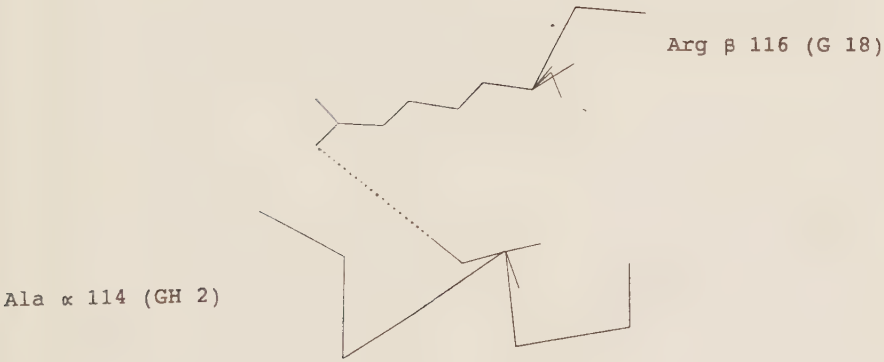


Abb. 18: α1/β1-Kontakt, Lyra-Hämoglobin.

Was die Physiologie der Hämoglobine von Mega- und Microchiroptera betrifft, liegen bisher Daten nur über das Hämoglobin von *Tadarida brasiliensis* vor[8]. Sie sind nicht außergewöhnlich, mit Ausnahme des, verglichen mit Humanhämoglobin, geringeren Einflusses von CO_2 auf die Affinität, was die Sauerstoffversorgung in Höhlen mit hyperkapnischen Bedingungen erleichtert. Es ist noch nicht möglich, nur anhand der Sequenzvergleiche eine Aussage über die Eigenschaften des Hämoglobins zu machen. Das gilt besonders für die nicht-Häm Liganden wie CO_2, dessen geringerer Einfluß auf die Affinität in diesem Fall nicht erklärt werden kann.

Von besonderm Interesse ist die Fähigkeit einiger Microchiroptera in Gegenwart hoher NH_3-Konzentrationen zu leben, die für Menschen innerhalb von ca. 30 Minuten letal wirken. Es ist bisher nicht untersucht worden, ob das Hämoglobin zu dieser Anpassung beiträgt. Ein wichtiger Ligand für die Regulation der Sauerstoffaffinität bei den meisten Säugern ist 2,3-Diphosphoglycerat (DPG). Die Wechselwirkung zwischen DPG und den β-Ketten führt zu einer Erniedrigung der Affinität durch die Stabilisierung der Deoxyform (T-Struktur). Folgende Aminosäurereste sind an der Bindung beteiligt: β1 NA1 Val, β2 NA2 His, β82 EF6 Lys und β143 H21 His[24,36]. Da die vorhandenen Austausche keine dieser Stellen betreffen, ist es unwahrscheinlich, daß der DPG-Einfluß anders ist als bei den meisten DPG-abhängigen Säugerhämoglobinen.

Über die physiologischen Eigenschaften der Nagetierhämoglobine liegen einige Angaben vor[37,38]. Da die phylogeneti-

schen Abstände zwischen den Familien der Nagetiere groß sind, werden hier nur die Werte für das Hämoglobin von *Spermophilus townsendii*[38] zum Vergleich herangezogen.

Da alle ausgetauschten Bindungsstellen bei *Marmota marmota marmota* und *Spermophilus townsendii* identisch sind, ist anzunehmen, daß das Murmeltier auch eine ähnliche Sauerstoffaffinität hat. Interessant ist der Austausch von ß119 G11 Val→Met in beiden Spezies verglichen mit Humanhämoglobin. Diese Substitution führt im abnormalem Hämoglobin San Diego[32,39,40] zu einer Erhöhung der Sauerstoffaffinität. Die Affinität des *Spermophilus*-Hämoglobins ist jedoch nicht so hoch, wie man erwarten sollte, wenn man diesen speziellen Austausch berücksichtigt.

Es wäre wichtig, den Einfluß von CO_2 auf die Sauerstoffaffinität des Murmeltier-Hämoglobins zu untersuchen, da diese Tiere während des Winterschlafs in hermetisch verschlossenen Höhlen sicher ebenfalls stark hyperkapnischen Bedingungen ausgesetzt sind.

4.3. Evolution

4.3.1. Flughunde und Fledermäuse

Die Ordnung Chiroptera ist sehr vielfältig. Die geographische Verteilung ihrer Vertreter zeigt eine Differenzierung dergestalt, daß die Unterordnung Megachiroptera (Flughunde) in der Neuen Welt nicht vorkommt, während die Unterordnung Microchiroptera (Fledermäuse) weltweit verbreitet ist[41]. Beide Unterordnungen unterscheiden sich in mehreren Merkmalen. Ein wichtiges Merkmal ist die Entwicklung eines sehr präzise funktionierenden Echoortungssystems bei den Fledermäusen, das bei den Flughunden nicht gefunden wird. Das ist von Vorteil für die nächtliche Orientierung im Tropenwald und ermöglicht das Aufspüren fliegender Insekten, die die bevorzugte Nahrung dieser Tiere sind. Die Flughunde dagegen verfügen über kein Echoortungssystem, haben aber eine binokulare Verschaltung im Gehirn, die ihnen ein dreidimensionales Sehen erlaubt. Sie ernähren sich von Früchten und können ihre vorderen Extremitäten als Greifwerkzeuge benutzen.

Mit der Klassifizierung der Mega- und Microchiroptera haben sich die Biologen seit langer Zeit beschäftigt. Natürlich beruht die heutige Systematik nur auf morphologischen Merkmalen. Untersuchungen auf der Ebene der Molekularbiologie hat es erst in jüngster Zeit gegeben (karyologische Studien, Sequenzierung[42-55]). Das ist darauf zurückzuführen, daß das Material schwer zugänglich und die Tiere in den meisten Fällen klein sind. Die Entwicklung moderner Methoden

der Proteinsequenzierung ermöglicht es, mit kleinen Mengen von Proteinen auszukommen.

Wegen ihres Echoortungssystems sind die Fledermäuse schon seit langer Zeit Modelle für die akustische Physiologie[56]. Kürzlich ergaben sich durch die Entdeckung eines Primaten-identischen Sehsystems bei Flughunden neue Aspekte der Systematik[4]. Dieser Befund wirft die Frage auf, ob Flughunde "fliegende Primaten" sind, was bedeuten würde, daß sich die Fähigkeit zu fliegen bei Säugetieren zweimal und unabhängig voneinander entwickelt hat.

Zur Klärung dieser Frage habe ich Hämoglobine von 2 Mega- und 2 Microchiroptera sequenziert: Der Flughunde *Cynopterus sphinx* und *Pteropus poliocephalus* und der Fledermäuse *Megaderma lyra* und *Rhinopoma hardwickei*. Tabelle 26 zeigt die Stellung dieser Tiere sowie weiterer Chiroptera mit publizierten und nicht publizierten Hämoglobin-Sequenzen in der Systematik und ihre Verbreitungsgebiete[41]. Durch die zum Teil sehr geringe Zahl der bekannten Vertreter innerhalb der einzelnen Gattungen haben diese Daten besonderes Gewicht für phylogenetische Untersuchungen. Einen Vergleich aller bisher sequenzierten Globinketten von Flughunden und Fledermäusen geben die Tabellen 27 & 28. Die im Rahmen dieser Dissertation sequenzierten Ketten sind mit * gekennzeichnet.

TABELLE 26.

Ordnung: Chiroptera

Unterordnung: Megachiroptera

Familie	Unterfamilie	Untersuchte Vertreter	Bekannte Arten	Verbreitungsgebiet der jeweiligen Gattung[41]
Pteropodidae	Pteropodinae	Cynopterus sphinx	5	Indien, China, Jawa, Timor, Philippinen
"	"	Pteropus poliocephalus	65	Madagaskar, Indischer Ozean, Australien
"	"	Pteropus alecto		"
"	"	Rousettus aegyptiacus	9	Afrika, Zypern, Südasien, Philippinen

Unterordnung: Microchiroptera

Überfamilie	Familie	Unterfamilie	Untersuchte Vertreter	Bekannte Arten	Verbreitungsgebiet der jeweiligen Gattung[41]
Emaballonuroidea	Rhinopomatidae	-	Rhinopoma hardwickei	3	Nordafrika, Südwestasien
Rhinolophoidea	Megadermatidae	-	Megaderma lyra	2	Südwestasien, Idonesien
Phyllostomoidea	Phyllostomidae	Phyllostominae	Macrotus californicus	2	Kalifornien, Zentralamerika
Vespertillionoidea	Vespertillionidae	Vespertillioninae	Myotis velifer	94	Fast weltweit
"	"	Nyctophilinae	Antrozous pallidus	2	USA, Mexiko, Cuba
Molossidae	-	-	Tadarida brasiliensis	52	Fast weltweit

TABELLE 27. Mega-, Microchiroptera und Primaten, α-Ketten

										10										20										30										40										50										60
Ho	V	L	S	P	A	D	K	T	N	V	K	A	A	W	G	K	V	G	A	H	A	G	E	Y	G	A	E	A	L	E	R	M	F	L	S	F	P	T	T	K	T	Y	F	P	H	F	D	L	S	H	G	S	A	Q	V	K	G	H	G	K
Cs	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	G	N	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦	P	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Pp	¦	¦	¦	S	T	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	G	N	V	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦
Pa	¦	¦	¦	S	T	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	G	¦	V	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦
Ra	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	I	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	G	N	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Rh	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Ml	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	F	D	¦	¦	¦	G	Q	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦
Mc	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	G	Q	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Mv	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Ap	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	G	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Tb	¦	¦	¦	¦	E	¦	¦	N	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	G	Q	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Tg	¦	¦	¦	¦	G	¦	¦	S	¦	I	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	¦	G	Q	¦	P	Q	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	M	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	Q	A	¦	¦	¦
Lt	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	G	¦	¦	E	¦	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦
Lv	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	¦	T	¦	¦	G/K	A	I	¦	G	Q	¦	A	D	H	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	G/A	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦
Nc	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	E	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦
Gc	¦	¦	¦	¦	T	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	E	¦	¦	¦	G	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦
Ta	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	G	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦

										70										80										90										100										110										120
Ho	K	V	A	D	A	L	T	N	A	V	A	H	V	D	D	M	P	N	A	L	S	A	L	S	D	L	H	A	H	K	L	R	V	D	P	V	N	F	K	L	L	S	H	C	L	L	V	T	L	A	A	H	L	P	A	E	F	T	P	A
Cs	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	I	¦	¦	L	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	N	¦	¦	¦	S	D	¦	¦	¦	¦
Pp	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	G	¦	M	¦	¦	L	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	N	¦	¦	¦	N	D	¦	¦	¦	¦
Pa	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	G	¦	I	¦	¦	L	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	S/T	D	¦	¦	¦	¦
Ra	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	G	¦	L	¦	¦	L	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	N	¦	¦	¦	S	D	¦	¦	¦	¦
Rh	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	G	¦	M	¦	¦	L	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦
Ml	¦	¦	G	¦	¦	¦	V	¦	¦	¦	G	¦	L	¦	¦	L	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	N	V	¦	¦	¦	¦	¦	¦	V	¦	V	A	¦	G	¦	¦	¦	¦
Mc	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	G	¦	M	¦	¦	L	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	H	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Mv	¦	¦	G	¦	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	M	¦	¦	L	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	C	¦	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦
Ap	¦	¦	G	¦	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	M	¦	¦	L	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	C	¦	H	¦	G	D	¦	¦	¦	¦
Tb	¦	¦	G	E	¦	¦	¦	T	¦	¦	N	¦	M	¦	¦	L	¦	G	¦	¦	¦	T	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	C	¦	N	¦	D/G	¦	¦	¦	¦	¦
Tg	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	T	¦	¦	G	¦	L	¦	¦	L	¦	T	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	¦	¦	¦	¦	¦	C	¦	H	¦	G	D	¦	¦	¦	E
Lt	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	T	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	C	¦	H	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦
Lv	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	G	¦	L	¦	¦	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	H	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Nc	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	C	¦	H	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦
Gc	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	C	¦	H	¦	¦	¦	L	¦	¦	¦
Ta	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	T	¦	¦	G	¦	I	¦	N	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	C	¦	H	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦

										130										140	
Ho	V	H	A	S	L	D	K	F	L	A	S	V	S	T	V	L	T	S	K	Y	R
Cs	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Pp	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Pa	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Ra	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Rh	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Ml	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Mc	I	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	F	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Mv	I	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	V	¦	¦	¦	¦
Ap	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	V	¦	¦	¦	¦
Tb	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Tg	I	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	N	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Lt	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Lv	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Nc	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Gc	¦	¦	¦	¦	F	¦	¦	¦	M	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Ta	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	V	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦

	Ho = Homo sapiens (Mensch,P)	[2,57]	
*	Cs = Cynopterus sphinx (Kurznasen-Flughund,M)	[9]	(14)
*	Pp = Pteropus poliocephalus (Graukopf-Flughund,M)		(19)
	Pa = Pteropus alecto (Graukopf-Flughund,M)	[10]	(18)
	Ra = Rousettus aegyptiacus (Ägyptischer Flughund,M)	[2,5]	(14)
*	Rh = Rhinopoma hardwickei (Hardwicke-Klappnase,m)		(10)
*	Ml = Megaderma lyra (Lyra-Fledermaus,m)		(23)
	Mc = Macrotus californicus	[7]	(15)
	Mv = Myotis velifer (Mausohr,m)	[2,6]	(13)
	Ap = Antrozous pallidus (Blasse Fledermaus,m)	[10]	(14)
	Tb = Tadarida brasiliensis (Faltlippen-Fledermaus,m)	[8]	(18)
	Tg = Tupaia glis (Spitzhörnchen,P)	[2,58]	(27)
	Lt = Loris tardigradus (Schlanklori,P)	[2,59]	(10)
	Lv = Lemur variegatus (Vari,P)	[2,60]	(16/18)
	Nc = Nycticebus coucang (Plumplori,P)	[2,62]	(9)
	Gc = Galago crassicaudatus (Riesengalago,P)	[2,63]	(13)
	Ta = Tarsius bancanus (Sundakoboldmaki,P)	[2,64]	(12)

M = Megachiroptera   m = Microchiroptera   P = Primates

¦ = Identische Aminosäure   [] = Literatur   () = Anzahl der Austausche zu Humanhämoglobin

* = Sequenziert im Rahmen dieser Dissertation

TABELLE 28. Mega-, Microchiroptera und Primaten, β-Ketten

	1–10	11–20	21–30	31–40	41–50	51–60
Ho	V H L T P E E K S A	V T A L W G K V N V	D E V G G E A L G R	L L V V Y P W T Q R	F F E S F G D L S T	P D A V M G N P K V
Cs	¦ ¦ ¦ S G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	A S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦
Pp	¦ ¦ ¦ S G ¦ ¦ ¦ A ¦	¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	A P ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Pa	¦ ¦ ¦ S G ¦ ¦ ¦ A ¦	¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	A S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ra	¦ ¦ ¦ S G ¦ ¦ ¦ A ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦	E ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	A S ¦ ¦ ¦ S ¦ ¦ ¦ ¦
Rh	¦ ¦ ¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	¦ S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ml	¦ ¦ ¦ ¦ N ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ I G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	E ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	¦ S ¦ I ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Mc	¦ ¦ ¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ T	¦ S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	E ¦ I ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	¦ S ¦ ¦ F ¦ ¦ A ¦ ¦
Mv	¦ ¦ ¦ ¦ A D ¦ ¦ A ¦	¦ S G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ T ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N	A A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S ¦ ¦
Ap	¦ ¦ ¦ ¦ A D ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	E ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N	A G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦
Tb	¦ ¦ ¦ S G ¦ ¦ ¦ G ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ Q	E ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	A S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦
Tg	¦ ¦ ¦ S G ¦ ¦ ¦ A ¦	¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ D L	E K ¦ ¦ ¦ Q S ¦ ¦ S	¦ ¦ I ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	¦ S ¦ ¦ ¦ S ¦ ¦ ¦ ¦
Lt	¦ ¦ ¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	E D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	¦ S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Lv	T F ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N G H	¦ ¦ S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	E K ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	¦ ¦ ¦ I ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Nc	¦ ¦ ¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	¦ S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Gc	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ D ¦ ¦ N ¦	¦ C ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	E ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S	¦ S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ta	¦ ¦ ¦ ¦ A D ¦ ¦ A ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ D ¦	E D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦

	61–70	71–80	81–90	91–100	101–110	111–120
Ho	K A H G K K V L G A	F S D G L A H L D N	L K G T F A T L S E	L H C D K L H V D P	E N F R L L G N V L	V C V L A H H F G K
Cs	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ D S	¦ ¦ E ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ S	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ V ¦ ¦ ¦ R ¦ ¦ ¦ ¦
Pp	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ D S	¦ ¦ E ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ R ¦ ¦ ¦ ¦
Pa	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ D S	¦ ¦ E ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ R ¦ ¦ ¦ ¦
Ra	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ D S	¦ ¦ E ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ S	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ R ¦ ¦ ¦ ¦
Rh	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N S	¦ ¦ E ¦ ¦ Q N ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ Y ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ R ¦ ¦ ¦ ¦
Ml	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N S	¦ ¦ E ¦ ¦ K N ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ Y I ¦	L ¦ ¦ ¦ ¦ R ¦ ¦ ¦ ¦
Mc	¦ S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ D S	¦ ¦ N ¦ M Q ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ V ¦ ¦ ¦ R N ¦ ¦ ¦
Mv	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N S	¦ G E ¦ ¦ K N V ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ I ¦ ¦ ¦ R ¦ ¦ ¦ ¦
Ap	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K N ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	M I ¦ ¦ ¦ R ¦ ¦ ¦ ¦
Tb	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N S	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K N ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ V ¦ ¦ ¦ R T ¦ ¦ ¦
Tg	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T S	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ R ¦ ¦ ¦ C N ¦ ¦ P
Lt	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ V ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Lv	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S ¦	¦ ¦ E ¦ ¦ H ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ V A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ I ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N
Nc	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ V ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Gc	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦	¦ C ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ta	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦	¦ ¦ E ¦ M ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦

	121–130	131–140	141–146
Ho	E F T P P V Q A A Y	Q K V V A G V A N A	L A H K Y H
Cs	¦ ¦ ¦ ¦ Q L ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Pp	¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T/N ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Pa	¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T/N ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ra	¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Rh	¦ ¦ ¦ ¦ E ¦ E ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ml	¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Mc	¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Mv	¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ G ¦ F	¦ ¦ L A L ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ap	¦ ¦ C ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ F	¦ ¦ ¦ S L ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ G ¦ ¦ ¦ ¦
Tb	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S ¦ F	¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Tg	¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦ F	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Lt	D ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ S ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Lv	D ¦ S ¦ Q T ¦ ¦ ¦ F	¦ ¦ ¦ ¦ T ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Nc	D ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ S ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Gc	D ¦ ¦ ¦ E/Q ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	E ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ta	¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦ ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦	¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦

	Ho = Homo sapiens (Mensch,P)	[2,57]	
*	Cs = Cynopterus sphinx (Kurznasen-Flughund,M)	[9]	(20)
*	Pp = Pteropus poliocephalus (Graukopf-Flughund,M)		(16/17)
	Pa = Pteropus alecto (Graukopf-Flughund,M)	[10]	(16/17)
	Ra = Rousettus aegyptiacus (Ägyptischer Flughund,M)	[2,5]	(19)
*	Rh = Rhinopoma hardwickei (Hardwicke-Klappnase)		(16)
*	Ml = Megaderma lyra (Lyra-Fledermaus.m)		(20)
	Mc = Macrotus californicus	[7]	(22)
	Mv = Myotis velifer (Mausohr,m)	[2,6]	(27)
	Ap = Antrozous pallidus (Blasse Fledermaus,m)	[10]	(21)
	Tb = Tadarida brasiliensis (Faltlippen-Fledermaus,m)	[8]	(24)
	Tg = Tupaia glis (Spitzhörnchen,P)	[2,58]	(26)
	Lt = Loris tardigradus (Schlanklori,P)	[2,59]	(13)
	Lv = Lemur variegatus (Vari,P)	[2,61]	(25)
	Nc = Nycticebus coucang (Plumplori,P)	[2,62]	(11)
	Gc = Galago crassicaudatus (Riesengalago,P)	[2,63]	(16/17)
	Ta = Tarsius bancanus (Sundakoboldmaki,P)	[2,64]	(14)

M = Megachiroptera   m = Microchiroptera   P = Primates

¦ = Identische Aminosäure   [] = Literatur   () = Anzahl der Austausche zu Humanhämoglobin

* = Sequenziert im Rahmen dieser Dissertation

Die Zahl der Substitutionen gegenüber Humanhämoglobin ist bei den Mega- und Microchiroptera etwa vergleichbar. Alle gefundenen Austausche kommen auch bei anderen Säugetieren vor[2]. Es gibt also keine Substitutionen, die für die beiden Unterordnungen spezifisch sind. Aus diesem Grund ist es nur durch eine Rechner-unterstützte mathematische Auswertung möglich, eine Aussage über die phylogenetische Beziehung dieser Tiere und deren Verwandschaft zu den Primaten zu machen. Die Primärstrukturen der Hämoglobine von *Pteropus alecto*[10], *Antrozous pallidus*[9], *Tadarida brasiliensis*[8], *Macrotus californicus*[7] und *Myotis velifer*[6] wurden parallel zu dieser Arbeit ermittelt, während die von *Rousettus aegyptiacus*[5] schon bekannt war.

Für die Klassifizierung der Fledermäuse und Flughunde gibt es viele Modelle. Die wichtigsten sind die von L. Van Valen[65] und J.D. Smith[66]. Nach Van Valen sind die Flughunde und Fledermäuse monophyletischen Ursprungs, so daß sich die Fähigkeit zu fliegen nur einmal entwickelt hat. Es ist jedoch interessant, daß die Flughunde eine karyotypisch sehr einheitliche Gruppe darstellen. Alle bisher untersuchten Vertreter haben 26 Chromosomen[67], während bei den Fledermäusen diese Zahl stark variiert, was gegen einen monophyletischen Ursprung spricht. Smith dagegen findet, daß die vorhandenen Daten über die Physiologie der Mega- und Microchiroptera nicht ausreichend sind, um eine eindeutige Aussage zu ermöglichen.

Zur Klärung dieser Fragen wurden die vorhandenen

Sequenzdaten von vier Flughunden und sechs Fledermäusen mit Hilfe der Programme des Systems PHYLIP 3.0 von J. Felsenstein[68-74] nach der "Maximum Parsimony" Methode analysiert. Dieses Programm berechnet Stammbäume anhand von Proteinsequenzen mit einer Methode, die zwischen der von Eck und Dayhoff[75] und der von Fitch[76] liegt. Nach Eck und Dayhoff sind Aminosäureaustausche jeder Art erlaubt. Die Zahl der Substitutionen, die für die Evolution innerhalb einer phylogenetischen Linie notwendig sind, wird berechnet. Diese Methode hat den Nachteil, daß sie Austausche erlaubt, die im Widerspruch zum genetischen Code stehen und sie gleichwertig mit solchen zählt, die erlaubt sind. Fitch dagegen berechnet die Mindestanzahl der Nukleotidsubstitutionen, die zu einer gegebenen Proteinsequenz führen, wobei Mutationen, die zu einem Aminosäureaustausch führen, ebenso gezählt werden wie solche, die in der Proteinsequenz nicht erkennbar sind. Die Methode von J. Felsenstein verwendet Substitutionen, die nicht im Widerspruch zum genetischem Code stehen. Austausche zwischen zwei Aminosäuren, die über eine dritte Aminosäure erfolgen können, sind erlaubt und werden als 2 Substitutionen gezählt, wenn jede unabhängig von der anderen erfolgen kann. Die resultierenden Stammbäume haben keine Wurzel. Die Methode erlaubt die Berechnung von Stammbäumen anhand von Proteinsequenzen, die nicht länger als 200 Aminosäurereste sind. Deshalb wurden die Berechnungen für die α- und β-Ketten getrennt durchgeführt. Das erschien jedoch ohnehin sinnvoll, da die Evolutionsrate bei den beiden Kettentypen verschieden ist.

Die folgende Abbildung 19 zeigt die anhand der α- bzw. β-Ketten berechneten Stammbäume für die Mega- und Microchiroptera. In beiden Fällen bilden die Flughunde eine einheitliche Gruppe, während die Einteilung der Fledermäuse zeigt, daß *Rhinopoma hardwickei* näher mit den Flughunden verwandt ist. Ferner läßt sich feststellen, daß *Myotis velifer* und *Antrozous pallidus* tatsächlich einer Familie (Vespertilionidae) angehören. Interessant ist die Position von *Tadarida brasiliensis* und *Macrotus californicus* vor den beiden Vertretern der Vespertilionidae, obwohl diese beiden Tiere gute Flieger sind, was auf eine höhere Entwicklungsstufe hinweist.

Alpha-Ketten

```
Cynopterus sphinx (M)
|
|  Rhinopoma hardwickei (m)
|  |
|  |  Antrozous pallidus (m)
|  |  |
|  |  9--Myotis velifer (m)
|  |  |
|  |  8-----Tadarida brasiliensis (m)
|  |  |
|  |  7--------Macrotus californicus (m)
|  |  |
|  5--6-----------Megaderma lyra (m)
|  |
|  |                  Pteropus alecto (M)
|  |                  |
|  |                  3--Pteropus poliocephalus (M)
|  |                  |
1--4-----------------2-----Rousettus aegyptiacus (M)
```

Beta-Ketten

```
Cynopterus sphinx (M)
|
|  Macrotus californicus (m)
|  |
|  |  Rhinopoma hardwickei (m)
|  |  |
|  |  |  Antrozous pallidus (m)
|  |  |  |
|  |  |  9--Myotis velifer (m)
|  |  |  |
|  |  |  8-----Tadarida brasiliensis (m)
|  |  |  |
|  6--5--7--------Megaderma lyra (m)
|  |
|  |                  Pteropus alecto (M)
|  |                  |
|  |                  3--Pteropus poliocephalus (M)
|  |                  |
1--4-----------------2-----Rousettus aegyptiacus (M)
```

Abb. 19. Rechnerunterstützter Vergleich der α- bzw. β-Ketten von Mega- (M) und Microchiroptera (m) nach J. Felsenstein. Das Cladogramm ist in der Reihenfolge der Ziffern zu lesen.

Bei der Berechnung der Stammbäume, die Mega-, Microchiroptera und Primaten zusammenfassen, wurde neben allen Chiroptera-Sequenzen je ein Vertreter der verschiedenen Primaten-Familien verwendet, wobei die Familie Hominidae durch die Sequenz des Humanhämoglobins[57] vertreten ist. Andere Sequenzen von Menschenaffen-Hämoglobinen wurden nicht berücksichtigt, da die Zahl der Austausche zu Humanhämoglobin so gering ist, daß dadurch das Ergebnis nicht beeinflußt würde. Die Stellung der Mega- und Microchiroptera bleibt wieder unverändert. Die Einteilung der Primaten entspricht der heutigen Systematik, die *Tupaia glis* als den bisher bekannten primitivsten Vertreter dieser Gruppe bezeichnet. Sowohl die α- als auch die β-Ketten-Stammbäume zeigen, daß, wenn es eine Verwandschaft zwischen Megachiroptera und Primaten gibt, diese nur über die Microchiroptera möglich ist. Das würde der Theorie von Pettigrew[4] über eine direkte Verbindung von Flughunden und Primaten widersprechen, ist aber ein erster Hinweis anhand von molekularen Daten dafür, daß die Flughunde und die Fledermäuse einen gemeinsamen Ursprung haben. Die letzteren sind zwar eine sehr vielfältige Gruppe, es ist jedoch nicht zu erwarten, daß die Ermittlung von Hämoglobinsequenzen anderer Vertreter der Unterordnung (z.B. der Phyllostomatidae) das Gesamtbild verändern würde. Neue Sequenzen könnten dagegen einen wichtigen Beitrag zu der Aufklärung der Verwandtschaft zwischen den verschiedenen Familien der Fledermäuse leisten. Aus den erhaltenen Ergebnissen kann man folgern, daß sich die Fähigkeit zu fliegen nur einmal, nämlich bei den Megachiroptera, entwickelt hat.

Alpha-Ketten

```
Cynopterus sphinx (M)
|
|  Rhinopoma hardwickei (m)
|  |
|  |  Antrozous pallidus (m)
|  |  |
|  |  9--Myotis velifer (m)
|  |  |
|  |  8-----Tadarida brasiliensis (m)
|  |  |
|  |  |        Lemur variegatus (P)
|  |  |        |
|  |  |        |  Homo sapiens (P)
|  |  |        |  |
|  |  |        |  |  Tarsius bancanus (P)
|  |  |        |  |  |
|  |  |        |  |  |  Galago crassicaudatus (P)
|  |  |        |  |  |  |
|  |  |        |  |  |  14-Nycticebus cougang (P)
|  |  |        |  |  |  |
|  |  |        |  |  |  13----Loris tardigradus (P)
|  |  |        |  |  |  |
|  |  |        11-16-15-12-------Tupaia glis (P)
|  |  |        |
|  |  7--------10-------------------Macrotus californicus (m)
|  |  |
|  5--6--------------------------------Megaderma lyra (m)
|  |
|  |                                 Pteropus alecto (M)
|  |                                 |
|  |                                 3--Pteropus poliocephalus (M)
|  |                                 |
1--4----------------------------2-----Rousettus aegyptiacus (M)
```

Abb. 20. Rechnerunterstützter Vergleich der α-Ketten von Mega- (M), Microchiroptera (m) und einigen Primaten (P) nach J. Felsenstein.

Das Cladogramm ist in der Reihenfolge der Ziffern zu lesen.

Beta-Ketten

```
Cynopterus sphinx (M)
|
|  Rhinopoma hardwickei (m)
|  |
|  |  Homo sapiens (P)
|  |  |
|  |  16-Tarsius bancanus (P)
|  |  |
|  |  15----Galago crassicaudatus (P)
|  |  |
|  |  |        Macrotus californicus (m)
|  |  |        |
|  |  |        |  Nycticebus cougang (P)
|  |  |        |  |
|  |  |        |  13-Loris tardigradus (P)
|  |  |        |  |
|  |  |        |  |     Lemur variegatus (P)
|  |  |        |  |     |
|  |  |        |  12----11-Tupaia glis (P)
|  |  |        |  |
|  |  |        |  |           Antrozous pallidus (m)
|  |  |        |  |           |
|  |  |        |  |           9--Myotis velifer (m)
|  |  |        |  |           |
|  |  |        |  |           8-----Tadarida brasiliensis (m)
|  |  |        |  |           |
|  5--14-------6--10----------7--------Megaderma lyra (m)
|  |                          |
|  |                          Pteropus alecto (M)
|  |                          |
|  |                          3--Pteropus poliocephalus (M)
|  |                          |
1--4--------------------------2-----Rousettus aegyptiacus (M)
```

Abb. 21. Rechnerunterstützter Vergleich der β-Ketten von Mega- (M), Microchiroptera (m) und einigen Primaten (P) nach J. Felsenstein.

Das Cladogramm ist in der Reihenfolge der Ziffern zu lesen.

4.3.2. Alpenmurmeltier

In den Tabellen 29 & 30 wird das Hämoglobin des Murmeltiers mit allen bisher bekannten Hämoglobinsequenzen von Nagetieren verglichen. Als Bezugsbasis dient Humanhämoglobin[57]. Es fällt auf, daß die Vertreter verschiedener Familien große Unterschiede zeigen. Auch bei Maus und Ratte, die beide zur Familie Myomorpha gehören, ist die Zahl der Substitutionen bei α- und β-Ketten zusammengenommen mit 34/35 groß. Für die drei Spezies der Familie Sciuridae (*Marmota marmota marmota, Citellus citellus* und *Spermophilus* oder *Citellus townsendii*, liegen diese Zahlen zwischen 6.5 und 9.5, wobei Austausche, die nur in einer von zwei Ketten gleichen Types vorkommen, als 0.5 gezählt werden. Hier liegt also eine wesentlich nähere Verwandtschaft vor.

TABELLE 29. Nagetiere, α-Ketten

```
                    10                  20                  30                  40                  50                  60
Ho V L S P A D K T N V K A A W G K V G A H A G E Y G A E A L E R M F L S F P T T K T Y F P H F D L S H G S A Q V K G H G K
Mm ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ E ¦ I ¦ G ¦ G A A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ I Q ¦ ¦ ¦ ¦
Cc ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ K ¦ ¦ ¦ D C ¦ E ¦ I ¦ G ¦ G A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦
St ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦ ¦ ¦ ¦ C ¦ E ¦ I ¦ G ¦ G A A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ ¦
Ma ¦ ¦ ¦ A K ¦ ¦ ¦ ¦ I S E ¦ ¦ ¦ ¦ I ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ F V Y ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ V ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Oz ¦ ¦ ¦ G E ¦ ¦ N ¦ I ¦ T ¦ ¦ ¦ ¦ I ¦ G ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ V V Y ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ V ¦ ¦ ¦ ¦ G ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦
Se ¦ ¦ ¦ ¦ E ¦ ¦ N H ¦ R S T ¦ D ¦ I ¦ G ¦ G A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ V ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦
Ca ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦ N ¦ ¦ ¦ T T ¦ D ¦ I ¦ G ¦ ¦ A ¦ ¦ V ¦ ¦ G ¦ T ¦ ¦ ¦ T ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ H ¦ I ¦ V ¦ P ¦ ¦ G D I ¦ A ¦ ¦ ¦
Rn ¦ ¦ ¦ A D ¦ ¦ ¦ ¦ I ¦ N C ¦ ¦ ¦ I ¦ G ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ E ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ A A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦ I ¦ V ¦ P ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦
Rn ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ I ¦ N C ¦ ¦ ¦ I ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ E ¦ ¦ ¦ Q ¦ ¦ ¦ A A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S/[redacted] ¦ I ¦ V ¦ P ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦
Mu ¦ ¦ ¦ G E ¦ ¦ S ¦ I ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ I ¦ G ¦ G A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ V ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
```

```
                    70                  80                  90                  100                 110                120
Ho K V A D A L T N A V A H V D D M P N A L S A L S D L H A H K L R V D P V N F K L L S H C L L V T L A A H L P A E F T P A
Mm ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ L ¦ S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ H ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Cc ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ L ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ H ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
St ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ A ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ L ¦ S ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ H ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ma ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ G ¦ L ¦ ¦ L ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦ H ¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦
Oz ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦ ¦ G ¦ L ¦ ¦ L ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦ I ¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦
Se ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A ¦ ¦ A G ¦ L ¦ ¦ L ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ N ¦ H ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ G
Ca ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ T ¦ ¦ G ¦ L ¦ ¦ L ¦ T ¦ ¦ ¦ T ¦ ¦ ¦ V ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ F ¦ N ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ G ¦ D ¦ ¦ ¦ S
Rn ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A K ¦ G ¦ ¦ L B B V ¦ Z ¦ ¦ ¦ T ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ C ¦ H ¦ G D ¦ ¦ ¦ ¦
Rn ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A K ¦ A E D ¦ B B L ¦ G ¦ ¦ ¦ T ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ F ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ C ¦ H ¦ G D ¦ ¦ ¦ ¦
Mu ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ A S ¦ A G ¦ L ¦ ¦ L ¦ G ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ S ¦ H ¦ ¦ D ¦ ¦ ¦ ¦
```

```
                   130                 140
Ho V H A S L D K F L A S V S T V L T S K Y R
Mm ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Cc ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
St ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ma ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ F ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Oz ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Se ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Ca I ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ F ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Rn M ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Rn ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
Mu ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦ ¦
```

	Ho = Homo sapiens (Mensch)	[2,57]	
*	Mm = Marmota marmota marmota (Alpenmurmeltier)	[2,77]	(13)
	Cc = Citellus citellus (Ziesel)	[2,78]	(14)
	St = Spermophilus townsendii (Townsend-Ziesel)	[2,38]	(14)
	Ma = Mesocricetus auratus (Goldhamster)	[2,79]	(19)
	Oz = Ondatra zibethica (Bisamratte)	[2,80]	(22)
	Se = Spalax ehrenbergi (Blindmaus)	[2,81]	(23)
	Ca = Cavia apera porcellus (Meerscweinchen)	[2,82]	(34)
	Rn = Rattus norvegicus (Wanderratte)	[2,83,84]	(31,30)
	Mu = Mus musculus (Hausmaus)	[2,85,86]	(20)

¦ = Identische Aminosäure

() = Anzahl der Austausche zu Humanhämoglobin

[] = Literatur

* = Sequenziert im Rahmen dieser Dissertation

TABELLE 30. Nagetiere, β-Ketten

	10										20										30										40										50										60
Ho	V	H	L	T	P	E	E	K	S	A	V	T	A	L	W	G	K	V	N	V	D	E	V	G	G	E	A	L	G	R	L	L	V	V	Y	P	W	T	Q	R	F	F	E	S	F	G	D	L	S	T	P	D	A	V	M	G	N	P	K	V
Mm	¦	¦	¦	S	D	G	¦	¦	N	¦	I	S	T	A	¦	¦	¦	¦	¦	A	A	D	I	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	S	A	S	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦
Cc	¦	¦	¦	S	D	G	¦	¦	N	¦	I	S	T	A	¦	¦	¦	¦	¦	H	A	A	I/V	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	S	A	S	¦	¦	¦	¦	D/A	¦	¦
St	¦	¦	¦	¦	D	G	¦	¦	N	¦	I	S	T	A	¦	¦	¦	¦	¦	A	A	¦	I	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	S	A	S	¦	¦	¦	¦	D/A	¦	¦
Ma	¦	¦	¦	¦	D	A	¦	¦	A	L	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	A	¦	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	H	¦	¦	¦	¦	¦	S	A	S	¦	¦	¦	N	¦	Q	¦
Oz	¦	¦	¦	¦	D	A	¦	¦	A	¦	I	S	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	G	¦	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	H	¦	¦	¦	¦	¦	S	S	S	¦	¦	¦	¦	A	¦	¦
Se	¦	¦	¦	¦	D	A	¦	¦	A	¦	¦	S	G	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	S	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦
Ca	¦	¦	¦	A	A	¦	¦	¦	¦	¦	I	L	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	G	¦	I	¦	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	¦	S	A	S	¦	I	¦	S	¦	A	H	¦
Rn	¦	¦	¦	¦	D	A	¦	¦	A	¦	¦	N	G	¦	¦	¦	¦	¦	¦	P	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	A	S	¦	I	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Mu	¦	¦	¦	¦	D	A	¦	¦	A	¦	¦	S	C	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	A	S	¦	I	¦	¦	¦	A	¦	¦
Mu	¦	¦	¦	¦	D	A	¦	¦	¦	¦	¦	S	C	¦	A	¦	¦	¦	¦	P	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	Y	¦	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	A	S	¦	I	¦	¦	¦	¦	¦	¦

	70										80										90										100										110										120
Ho	K	A	H	G	K	K	V	L	G	A	F	S	D	G	L	A	H	L	D	N	L	K	G	T	F	A	T	L	S	E	L	H	C	D	K	L	H	V	D	P	E	N	F	R	L	L	G	N	V	L	V	C	V	L	A	H	H	F	G	K
Mm	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	D	S	¦	¦	N	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	M	I	¦	I	¦	M	¦	¦	¦	L	¦	¦
Cc	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	D	S	¦	¦	N	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	V/M	I	¦	I	¦	M	¦	¦	¦	L	¦	¦
St	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	D	S	¦	¦	N	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	M	I	¦	I	¦	M	¦	¦	¦	L	¦	¦
Ma	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	H	S	¦	A	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	¦	S	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	M	I	I	¦	¦	¦	S	¦	D	L	¦	¦
Oz	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	I	T	¦	¦	A	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	A	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	M	I	¦	I	¦	¦	¦	S	¦	D	L	¦	¦
Se	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	N	S	¦	¦	E	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	¦	I	¦	V	¦	¦	¦	¦	¦	L	¦	¦
Ca	¦	S	¦	¦	A	¦	¦	¦	A	S	¦	¦	E	¦	¦	K	¦	¦	Q	D	¦	¦	¦	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	M	I	¦	I	A	¦	¦	¦	¦	H	P	S
Rn	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	N	¦	¦	N	¦	¦	¦	K	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	H	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	M	I	¦	I	¦	G	¦	¦	¦	L	¦	¦
Mu	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	T	¦	¦	N	¦	¦	¦	N	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	M	I	¦	I	¦	G	¦	¦	¦	L	¦	¦
Mu	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	I	T	¦	¦	N	E	¦	¦	K	N	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	A	I	¦	I	¦	G	¦	¦	¦	L	¦	¦

	130										140						
Ho	E	F	T	P	P	V	Q	A	A	Y	Q	K	V	V	A	G	V	A	N	A	L	A	H	K	Y	H
Mm	D	¦	¦	¦	E	A	¦	¦	¦	F	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Cc	D	¦	¦	¦	E	A	¦	¦	¦	F	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
St	D	¦	¦	¦	E	A	¦	¦	¦	F	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦
Ma	D	¦	¦	¦	S	A	¦	S	¦	F	H	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Oz	D	¦	¦	¦	D	A	¦	S	¦	F	¦	¦	¦	¦	T	¦	¦	¦	T	¦	¦	G	¦	¦	¦	¦
Se	D	¦	¦	¦	A	A	¦	¦	¦	F	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	T	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Ca	¦	¦	¦	¦	C	T	¦	¦	¦	F	¦	¦	¦	T	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Rn	¦	¦	S	¦	C	A	¦	¦	¦	F	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	S	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Mu	D	¦	¦	¦	A	A	¦	¦	¦	F	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	T	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦
Mu	D	¦	¦	¦	A	A	¦	¦	¦	F	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦	T	¦	¦	¦	¦	¦	¦	¦

	Ho = Homo sapiens (Mensch)	[2,57]	
*	Mm = Marmota marmota marmota (Alpenmurmeltier)	[2,77]	(34)
	Cc = Citellus citellus (Ziesel)	[2,78]	(34)
	St = Spermophilus townsendii (Townsend-Ziesel)	[2,38]	(33)
	Ma = Mesocricetus auratus (Goldhamster)	[2,79]	(36)
	Oz = Ondatra zibethica (Bisamratte)	[2,80]	(36)
	Se = Spalax ehrenbergi (Blindmaus)	[2,81]	(26)
	Ca = Cavia apera porcellus (Meerscweinchen)	[2,82]	(36)
	Rn = Rattus norvegicus (Wanderratte)	[2,87]	(28)
	Mu = Mus musculus (Hausmaus)	[2,88]	(29,29)

¦ = Identische Aminosäure

() = Anzahl der Austausche zu Humanhämoglobin

[] = Literatur

* = Sequenziert im Rahmen dieser Dissertation

Die Anzahl der Substitutionen zwischen *Marmota marmota marmota* und *Spermophilus townsendii* ist sowohl für die α- als auch für die β-Ketten geringer als zwischen dem letzteren und *Citellus citellus*. Demnach könnten diese beiden Tiere zu zwei verschiedenen Gattungen gehören, obwohl die vorhandene Systematik *Spermophilus townsendii* auch als *Citellus townsendii* bezeichnet[89,90]. Das ist auch das Ergebnis der Berechnung der Stammbäume anhand der α- bzw. β-Ketten der Nagetiere, wo die Hörnchen eine einheitliche Gruppe bilden, in der *Spermophilus townsendii* zwischen *Marmota marmota marmota* und *Citellus citellus* steht. Wie zu erwarten, werden *Mus musculus* und *Rattus norvegicus* aber auch *Ondatra zibethica* und *Mesocricetus auratus* zusammengefaßt. Nur die Stellung von *Spalax ehrenbergi* und *Cavia apera porcellus* unterscheidet sich in beiden Stammbäumen.

Alpha-Ketten

```
Citellus citellus
|
|  Spermophilus townsendii
|  |
|  |  Cavia apera porcellus
|  |  |
|  |  |  Spalax ehrenbergi
|  |  |  |
|  |  |  |  Mus musculus
|  |  |  |  |
|  |  |  |  7--Rattus norvegicus
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |     Ondatra zibethica
|  |  |  |  |     |
|  |  4--5--6-----8--Mesocricetus auratus
|  |  |
1--2--3-----------------Marmota marmota marmota
```

Beta-Ketten

```
Citellus citellus
|
|  Cavia apera porcellus
|  |
|  5--Spalax ehrenbergi
|  |
|  |     Mus musculus
|  |     |
|  |     7--Rattus norvegicus
|  |     |
|  |     |     Ondatra zibethica
|  |     |     |
|  4-----6-----8--Mesocricetus auratus
|  |
|  3-----------------Spermophilus townsendii
|  |
1--2--------------------Marmota marmota marmota
```

Abb. 22. Rechnerunterstützter Vergleich der α- bzw. β-Ketten von Nagetieren nach J. Felsenstein.

Das Cladogramm ist in der Reihenfolge der Ziffern zu lesen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

1) Die Primärstruktur der Hämoglobine des Alpenmurmeltiers (Marmota marmota marmota, Rodentia) sowie der Flughunde (Megachiroptera) Cynopterus sphinx und Pteropus poliocephalus und der Fledermäuse (Microchiroptera) Megaderma lyra und Rhinopoma hardwickei wurde aufgeklärt.

2) Alle diese Hämoglobine enthielten nur eine Komponente, mit Ausnahme des Graukopf-Flughund-Hämoglobins, das zwei Komponenten im Verhältnis 1:1 enthielt. Sie unterschieden sich in den β-Ketten, wo in Position 139 Ala und Thr gefunden wurden.

3) Die Beziehungen zwischen Struktur und Funktion werden diskutiert. Die Sequenzdaten lassen keine ungewöhnlichen physiologischen Eigenschaften erwarten.

4) Die Auswertung der Sequenzdaten der Chiroptera-Hämoglobine mit Hilfe des Programms PHYLIP von J. Felsenstein zeigte eine Verwandtschaft zwischen den Megachiroptera einerseits und den Microchiroptera andererseits. Die Einbeziehung von Primaten-Hämoglobinen in diesem Vergleich ergab, daß die Entwicklung der Primaten aus den Flughunden nur über die Fledermäuse möglich ist (Megachiroptera → Microchiroptera → Primaten → Mensch).

5) Die Zahl der Austausche zwischen den drei bekannten Sciuridae-Hämoglobinen ist gering. Ein Vergleich deutet auf eine nähere Verwandschaft zwischen Marmota marmota marmota und Spermophilus (Citellus) townsendii als zwischen dem letzteren und Citellus citellus hin.

6. LITERATUR

1. Goodman, M., Romero-Herrera, A.E., Dene, H., Czelusniak, J. & Tashian, R.E. (1982) *"Macromolecular Sequences in Systematics and Evolutionary Biology"* (Goodman, M., ed.), Plenum Press, New York

2. Kleinschmidt, T. & Sgouros, J.G. (1987) *Hemoglobin Sequences (Minireview)* *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **368**, 579-615

3. Moore, G.W., Goodman, M., Callahan, C., Holmquist, R. & Moise, H. (1976) *J. Mol. Biol.* **105**, 15-38

4. Pettigrew, J.D. (1986) *Science* **231**, 1304-1306

5. Kleinschmidt, T. & Braunitzer, G. (1982) *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **363**, 1209-1215

6. Kleinschmidt, T., Koop, B. & Braunitzer, G. (1987) *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **367**, 1243-1249

7. Soskic, V., Kleinschmidt, T. & Braunitzer, G. (1987) *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **368**, 199-204

8. Kleinschmidt, T., Rücknagel, K.P., Weber, R.E., Koop, B.F. & Braunitzer, G. (1987) *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **368**, 681-690

9. Sgouros, J.G., Kleinschmidt, T. & Braunitzer, G. (1987) *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **368**, 675-680

10. Kleinschmidt, T. (persönliche Mitteilung)

11. Goodman, M., Czelusniak, J., Moore, G.W., Romero-Herrera, A.E. & Matsuda, G. (1979) *Syst. Zool.* **28**, 132-163

12. Matsubara, H. & Sasaki, R.M. (1969) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **35**, 175-181

13. Hirs, C.H.W., Moore, S. & Stein, W.H. (1956) *J. Biol. Chem.* **219**, 623-642

14. Braunitzer, G., Schrank, B., Stangl, A. & Scheithauer, U. (1978) *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **359**, 137-146

15. Lottspeich, F. (1980) *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **361**, 1829-1834

16. Zimmermann, C.L. & Pisano, J.J. (1977) *Meth. Enzymol.* **47**, 45-51

17. Kratzin, H., Yang, C., Krusche, J.U. & Hilschmann, N. (1980)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **361**, 1591-1598

18. Braunitzer, G., Schrank, B., Ruhfus, A., Petersen, S. & Petersen, U. (1971)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **352**, 1730-1732

19. Braunitzer, G. & Schrank, B. (1970)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 351, 417

20. Edman, P. & Begg, G. (1967)
Eur. J. Biochem. 1, 80-91

21. Hunkapiller, M.W., Hewick, R.M., Dreyer, W.J., & Hood, L.E. (1983)
Meth. Enzymol. 91, 399-413

22. Begg, G., Rücknagel, P., Godovac-Zimmermann, J., Braunitzer, G. & Schuster, W. (1986)
Biol. Chem. Hoppe-Seyler 367, 81-94

23. Jauregui-Adell, J. & Marti, J. (1975)
Anal. Biochem. 69, 468-473

24. Fermi, G. & Perutz, M.F. (1981)
"Atlas of Molecular Structures in Biology" (Phillips, D.C. & Richards, F.M., eds.), Band 2: Haemoglobin and Myoglobin, pp. 22-26, Clarendon Press, Oxford

25. Bunn, H.F. & Forget, B.G. (1986)
"Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects", W.B. Saunders Company, Philadelphia

26. Fermi, G., Perutz, M.F., Shaanan, B. & Fourme, R. (1984)
J. Mol. Biol. 175, 159-174

27. Jones, T.A. (1985)
Meth. Enzymol. 115, 157-171

28. Braunitzer, G., Schrank, B., Stangl, A. & Bauer, C. (1978)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **359**, 547-558

29. Kleinschmidt, T., März, J., Jürgens, K.D. & Braunitzer, G. (1986)
Biol. Chem. Hoppe-Seyler 367, 153-160

30. Braunitzer, G., Schrank, B., Stangl, A. & Wiesner, H. (1979)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **360**, 1941-1946

31. Braunitzer, G., Schrank, B., Stangl, A. & Wiesner, H. (1980)
J. Chem. Soc. Pak. **2**, 1-7

32. IHIC List of Hemoglobin Variants (1987)
Hemoglobin **11(3)**, 241-308

33. Honig, G.R., Shamsuddin, M., Vida, L.N., Mompoint,M., Valcourt, E., Bowie, L., Jones, E.C., Powers, P.A., Spritz, R.A. & Guis, M. (1984)
J. Clin. Invest. **73**, 1740-1749

34. Lesk, A.M. & Chothia, C.H. (1986)
Phil. Trans. R. Soc. Lond. **A317**, 345-356

35. Chothia, C. & Lesk, A. (1986)
EMBO J. **5(4)**, 823-826

36. Arnone, A. (1972)
Nature (London) **237**, 146-147

37. Ar, A., Anielli, R. & Shkolnik, R. (1977)
Respiration Physiology **30**, 201-218

38. Kleinschmidt, T., Bieber, F.A., Nadler, C.F., Hoffmann, R.S., Vida, L.N., Honig, G.R. & Braunitzer, G. (1985)
Biol. Chem. Hoppe-Seyler **366**, 971-978

39. Nute, P.E., Stamatoyannopoulos, G., Hermodson, M.A. & Roth, D. (1974)
J. Clin. Invest. **53**, 320-328

40. Anderson, N.C. (1974)
J. Clin. Invest. **53**, 329-333

41. Smith, J.D. & Hill, J.E. (1984)
"Bats: A Natural History"
British Museum, London

42. Pierson, E.D., Sarich, V.M., Lowenstein, J.M., Daniel, M.J. & Rainey, W.E. (1986)
Nature (London) **323**, 60-63 (1986)

43. Baker, R.J. (1970)
Biology of Bats, Vol.I, pp. 65-96
Academic Press, New York

44. Narayana Naidu, K., & Gururaj, M. (1985)
Cytologia, **50**, 913-919

45. Manna, G.K. & Talukdar, K. (1965)
Chromosome Newsletter **17**, 77-78

46. Capanna, E. (1967)
Experientia **24** 624-626

57. Ray-chaudhuri, S.P. & Pathak, S. & Sharma, T. (1968)
The Nucleus 11, 96-101

58. Pathak, S. & Sharma, T. (1969)
Caryologia 22, 35-46

59. Ray-chaudhuri, S.P., Pathak, S. & Sharma, T. (1971)
Caryologia 24, 239-245

60. Bhatnagar, V.S. & Srivastava, M.D.L. (1974)
Cytologia 39, 327-334

61. Dutta, M. (1977)
Curr. Sci. 46, 687-688

62. Harada, M. & Yosida, T.H. (1978)
Chromosoma 65, 283-291

63. Strydom, D.J., van der Walt, S.J., &
Botes, D.P. (1972)
Comp. Biochem. Physiol. 43B, 21-24

64. Castillo, O., and Lehmann, H. (1977)
Biochim. Biophys. Acta 492, 232-236

65. de Jong, W.W., Zweers, A. & Goodman, M. (1980)
Protides of the Biological Fluids, 28th Colloq.
(Peeters, H., ed.), pp. 161-164
Pergamon Press, Oxford

66. Neuweiler, G. (1982)
"Biophysik" (Hoppe, W. et al., eds.), pp. 708-722
Springer-Verlag, Berlin

67. Braunitzer, G., Gehring-Müller, R., Hilschmann, N.,
Hilse, K., Hobom, G., Rudloff, V. & Wittmann-Liebold, B.
(1961)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 325, 283-286

68. Maita, T., Tanaka, E., Goodman, M. & Matsuda, G. (1977)
J. Biochem. 82, 603-605

69. Maita, T., Goodman, M. & Matsuda, G. (1978)
J. Biochem. 84, 377-383

70. Coppenhaver, D.H., Buettner-Janusch, J., Ehrhardt,
M.M. & Duffy, L.K. (1986)
Biochim. Biophys. Acta 873, 372-378

71. Duffy, L.K. & Coppenhaver, D.H. (1984)
"Hemoglobin" (Schnek, A.G. & Paul, C., eds.),
pp. 377-392, Editions de l'Universite de Bruxelles,
Brüssel

72. Matsuda, G., Maita, T., Watanabe, B., Ota, H.,
Araya, A., Goodman, M. & Prychodko, W. (1973)
Int. J. Protein Res. 5, 419-421

63. Watanabe, W., Fujii, T., Nakashima, Y., Maita, T. & Matsuda, G. (1985)
Biol. Chem. Hoppe-Seyler **366**, 265-269

64. Beard, J.M., Barnicot, N.A. & Hewett-Emmett, D. (1976)
Nature (London) **259**, 338-341

65. Van Valen, L. (1979)
Evolutionary Theory **4**, 103-121

66. Smith. J.D. (1976)
Spec. Publ. Mus. Texas Tech. Univ. **10**, 49-69

67. Pettigrew, J.D. (persönliche Mitteilung)

68. Felsenstein, J. (1978)
Syst. Zool. **27**, 27-33

69. Felsenstein, J. (1981)
J. Molec. Evol. **17**, 368-376

70. Felsenstein, J. (1982)
Quart. Rev. Biol. **57**, 379-404

71. Felsenstein, J. (1983)
J. Royal Stat. Soc. **A146**, 246-272

72. Felsenstein, J. (1984)
"Cladistics: Perspectives in the Reconstruction of Evolutionary History" (Duncan, T. & Stuessy, T.F., eds.), Columbia University Press, New York

73. Felsenstein, J. (1985)
Syst. Zool. **34**, 152-161

74. Felsenstein, J. & Sober, E. (1986)
Syst. Zool. **35**, 617-626

75. Eck, R.V. & Dayhoff, M.O. (1966)
"Atlas of Protein Sequence and Structure 1966" National Biomedical Research Foundation, Silver Spring, Maryland

76. Fitch, W.M. (1971)
Syst. Zool. **20**, 406-416

77. Sgouros, J.G., Kleinschmidt, T., Arnold, W. & Braunitzer, G. (1986)
Biol. Chem. Hoppe-Seyler **367**, 223-228

78. Soskic, V., Grujic-Injac, B. & Braunitzer, G. (1986)
Biol. Chem. Hoppe-Seyler **367**, 1159-1166

79. Braunitzer, G., Schrank, B., Stangl, A., & Wiesner, H. (1980)
J. Chem. Soc. Pak. **2**, 1-7

80. Bieber, F.A. & Braunitzer, G. (1983)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **364**, 1527-1536

81. Kleinschmidt, T., Nevo, E. & Braunitzer, G. (1984)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **365**, 531-537

82. Braunitzer, G., Schrank, B., Stangl, A. & Wiesner, H. (1979)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **360**, 1941-1946

83. Garrick, L.M., Sharma, V.S., McDonald, M.J. & Ramney, H.M. (1975)
Biochem. J. **149**, 245-258

84. Chua, C.G. Carrell, R.W. & Howard, B.H. (1975)
Biochem. J. **149**, 259-269

85. Popp, R.A. (1967)
J. Mol. Biol. **27**, 9-16

86. Nishioka, Y. & Leder, P. (1979)
Cell **18**, 875-882

87. Garrick, L.M., Sloan, R.L., Ryan, T.W., Klonowski, T.J. & Garrick, M.D. (1978)
Biochem. J. 173, 321-330

88. Konkel, D.A., Maizel, J.V., Jr., & Leder, P. (1979)
Cell **18**, 865-873

89. Thenius, E. (1972)
"Grundzüge der Verbreitungsgeschichte der Säugetiere"
VEB G. Fischer, Jena

90. Sarich, V.M. (1985)
"Evolutionary Relationships Among Rodents: A Multidisciplinary Analysis" (Luckett, W.P. & Hartenberger, J.-L., eds.), NATO ASI Series A, Vol. 92, pp. 423-452

7. *DANKSAGUNG*

Die vorliegende Arbeit wurde am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried bei München in der Zeit von Juli 1984 bis Januar 1987 unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. G. Braunitzer angefertigt.

Herrn Prof. Dr. G. Braunitzer möchte ich für die Ermöglichung der Arbeit und für viele interessante Diskussionen danken.

Frau Dr. T. Kleinschmidt danke ich ebenfalls für viele wertvolle Ratschläge und für die Durchsicht der Arbeit.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. B. Linzen, Zoologisches Institut der Universität München für viele Diskussionen und Vorschläge.

Herrn Prof. Dr. G. Neuweiler, Zoologisches Institut der Universität München, danke ich für die Blutproben des Indischen Flughundes, der Lyra-Fledermaus und der Hardwicke-Fledermaus.

Herrn Dr. W. Arnold, Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen, danke ich für die Beschaffung des Murmeltierblutes.

Herrn Prof. Dr. J. Pettigrew, University of Queensland, Australien, möchte ich für die Sendung der Graukopf-Flughund-Blutproben danken.

Für die Aminosäureanalysen und die Sequenzierung der Ketten und Peptide möchte ich mich bei Frl. E. Müller, Fr. E. Wottawa, Frl. R. Gautsch, Fr. B. Schrank, Fr. A. Muhr, Herrn C. Krombach, Herrn F. Huber und Herrn Dr. P. Rücknagel bedanken.

Der Max-Planck-Gesellschaft danke ich für die Gewährung eines Ausländer-Promotionsstipendiums.

8. LEBENSLAUF

John George Sgouros

Geburtsdatum: 5. April 1962

Geburtsort: Athen

AUSBILDUNG:

October 1968 - Juni 1974:

Elementarschule

October 1974 - Juni 1980:

Gymnasium (Abitur Juni 1980)

30. Juli - 4. September 1980:

Summer student im Diagnostic Instrumentation Laboratory, Department of Electronics, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel.

October 1980 - Juni 1984:

Studium an der Fakultät für Biologie der Universität Athen (Diplomprüfung 29. Juni 1984).

Seit Juli 1984:

Doktorand in der Abteilung Proteinchemie, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried bei München, unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. G. Braunitzer.